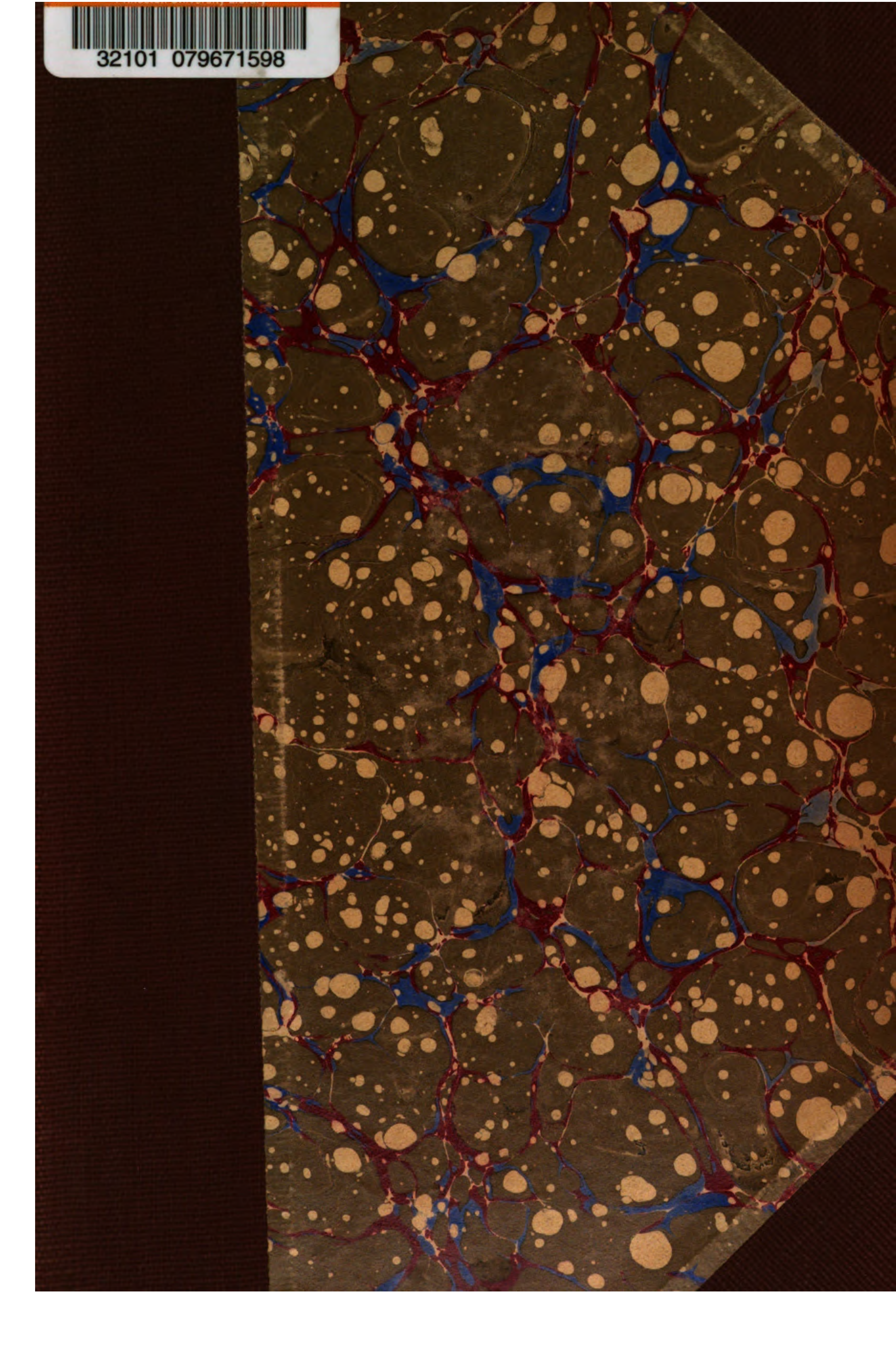
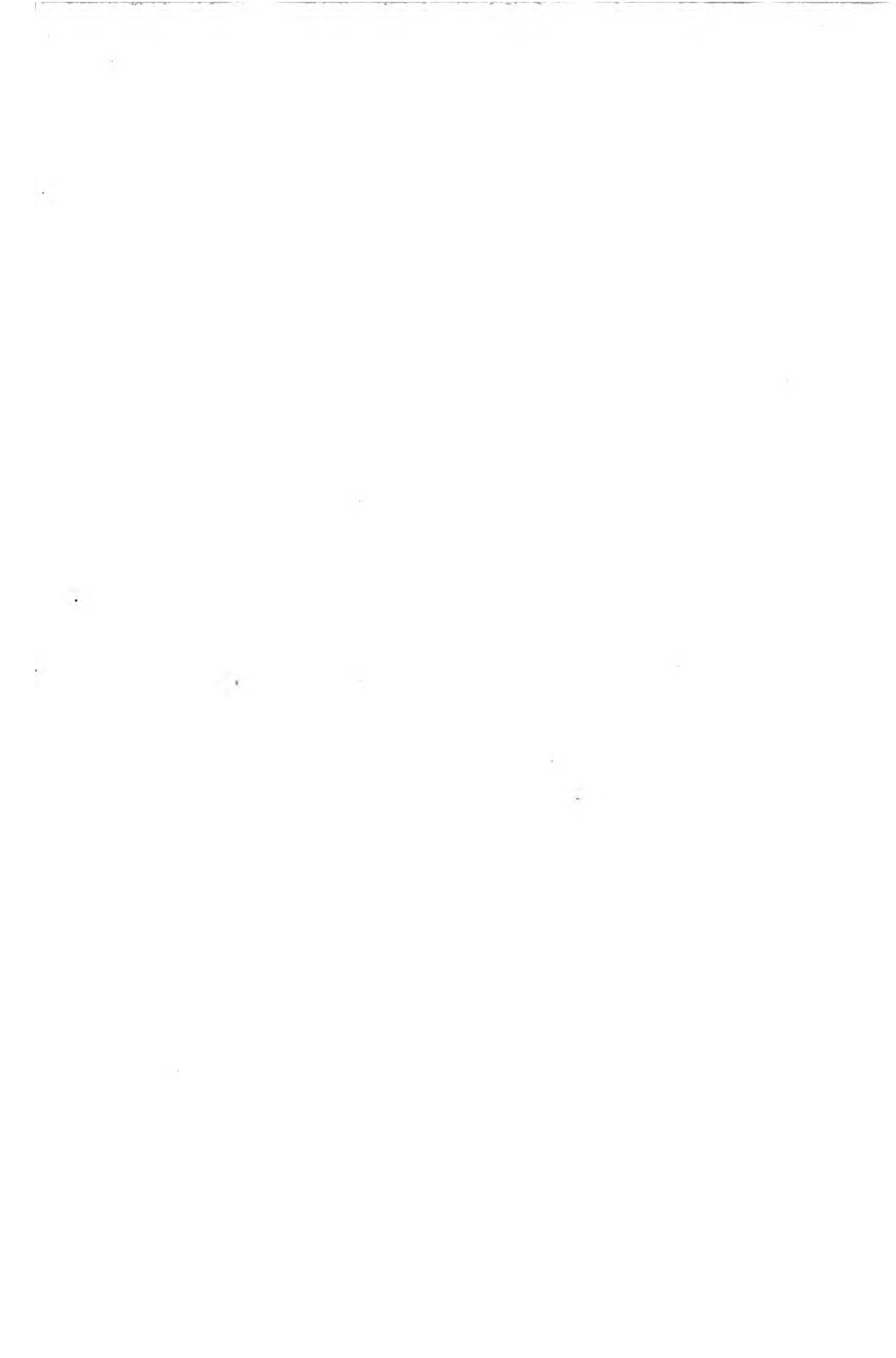
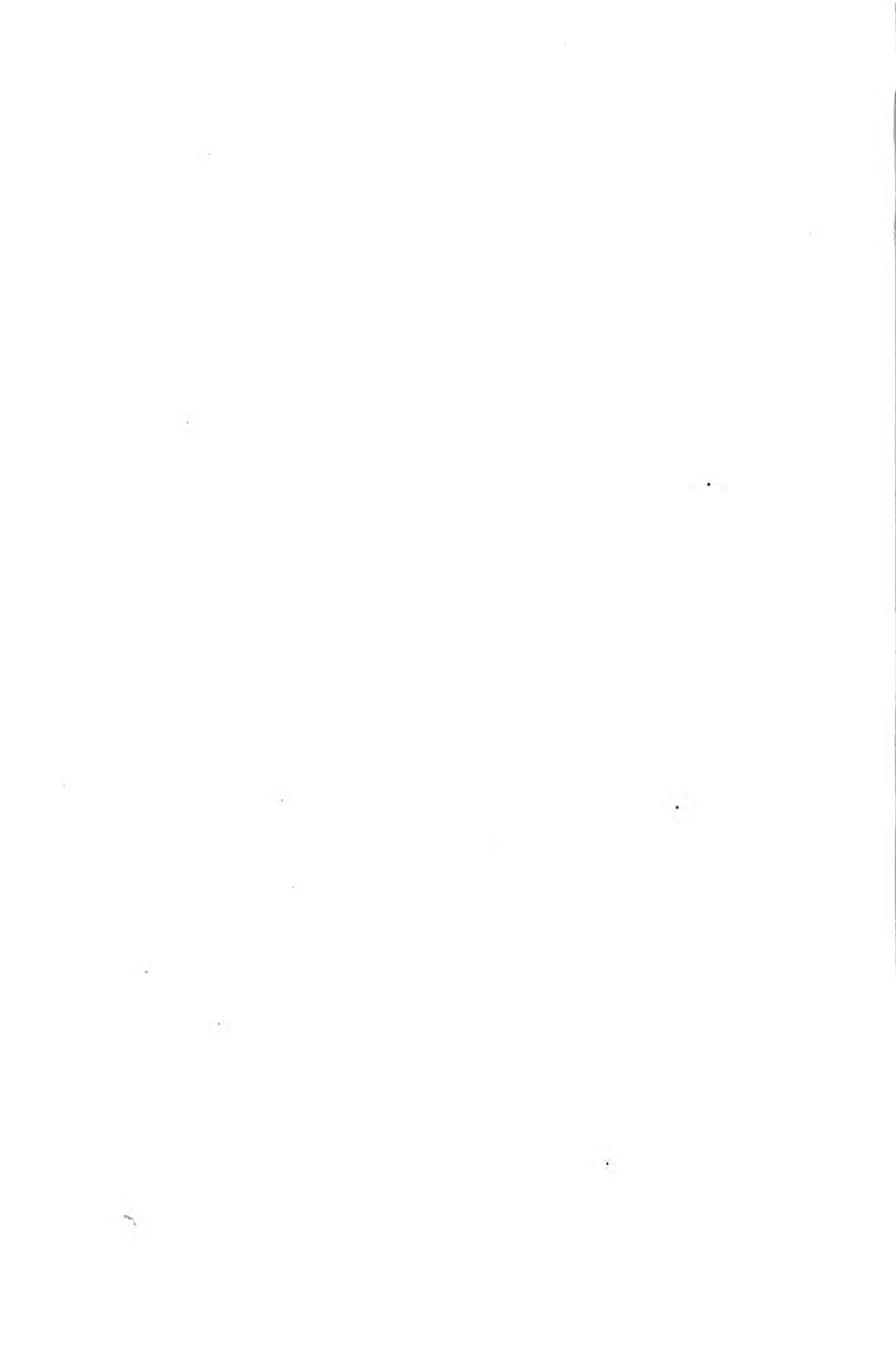





Dei
Sub Numine
Viget







Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

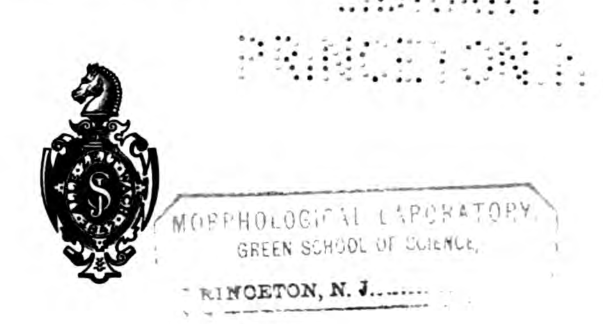
unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Achtundachtzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1918.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Über die bei der Wassermannschen Reaktion wirksamen Bestandteile der alkoholischen Organextrakte.

Von

Fritz Silberstein, Assistent am Institut für allg. und exper. Pathologie.

(Aus dem k. k. serotherapeutischen Institute in Wien.)

(Eingegangen am 13. Februar 1918.)

Mit 7 Figuren im Text.

Wassermann und seine Mitarbeiter verwendeten zu den ersten diagnostischen Luesuntersuchungen als „Antigen" Kochsalzextrakte macerierter luetischer Fötallebern. Die mit diesen Extrakten angestellten Reaktionen zeichneten sich sowohl durch hochgradige Empfindlichkeit als durch außerordentlich scharfe Spezifität aus. Wenn auch spätere Studien, insbesondere jene Landsteiners und seiner Mitarbeiter, Porges u. a. gezeigt hatten, daß auch alkoholische Extrakte nichtluetischer Organe sich als „Antigene" gut verwenden lassen, so wurde doch immer wieder darauf verwiesen, daß die nach der ursprünglichen Wassermannschen Vorschrift dargestellten Antigene die empfindlichsten Resultate liefern. Dazu kommt, daß die alkoholischen Extrakte normaler Organe untereinander durchaus nicht gleichwertig sind, sondern daß selbst in ganz gleicher Weise hergestellte Auszüge große Schwankungen in ihrer Wirkung zeigen. Die Ursache, weshalb gerade die aus macerierten luetischen Föten hergestellten Leberextrakte sich so gut wirksam erwiesen, blieb bisher unaufgeklärt[1]).

Um diese Frage dem Verständnis näherzurücken, wurde

[1]) Die Arbeit wurde bereits geraume Zeit vor dem Kriege fertiggestellt, wurde jedoch aus äußeren Gründen bisher nicht publiziert.

in großen, hier nur auszugsweise wiedergegebenen Reihenversuchen untersucht, welchen Schwankungen die Wirksamkeit alkoholischer Extrakte unterliegt, wenn ein und dasselbe Organ verschiedenen biochemischen Einwirkungen unterworfen wird. Zu diesem Zwecke wurden Hundelebern der autolytischen, peptischen, tryptischen und der Fettspaltung unterworfen und die aus den Spaltungsgemischen gewonnenen alkoholischen Extrakte, die in bezug auf das Ausgangsmaterial miteinander sowohl quantitativ wie qualitativ vergleichbar waren, auf ihre Wirksamkeit bei der Wassermannschen Reaktion untersucht.

Methodik.

Eine mit dem Wiegemesser zerkleinerte Hundeleber wurde in vier Teile geteilt und sodann jedes Viertel im Verhältnis 1 : 3 in 1 $^0/_0$ NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Eine dieser Proben wurde sogleich verarbeitet, die drei andern wurden unter Toluol der Autolyse im Brutschranke bei 37^0 überlassen. Nach 4, 7 und 13 Tagen wurde dann je eine weitere Partie aus dem Thermostaten genommen und derart verarbeitet, daß sie mit der 5fachen Menge Alkohol versetzt wurde. Von der abfiltrierten alkoholischen Lösung wurde ein Teil sofort ausgewertet, der Rest im Faustschen Apparat abgedampft, der Rückstand mit Äther extrahiert und der Ätherextrakt endlich mit Aceton im Überschuß gefällt. Auf diese Weise wurden erhalten:

1. Eine alkohol- und ätherunlösliche, hauptsächlich Eiweißkörper enthaltende,
2. eine alkohollösliche, ätherunlösliche, hauptsächlich aus Seifen bestehende,
3. eine alkohol-, äther- und acetonlösliche, aus Fettsäuren, Neutralfetten und Cholesterinverbindungen zusammengesetzte, und
4. eine alkohol- und ätherlösliche, acetonunlösliche, zum größten Teil Lipoide umfassende Fraktion.

Die Trockenrückstände aller dieser Teile wurden in je 25 ccm 95 $^0/_0$igem Alkohol aufgenommen, so daß die erhaltenen Lösungen untereinander vergleichbar waren. Vor dem Versuche wurden die benötigten Mengen mit 1 $^0/_0$ NaCl-Lösung verdünnt. Die in den Tabellen und Kurven angeführten

Zahlen geben die in den Röhrchen enthaltenen Mengen des unverdünnten Alkoholextraktes an.

In anderen Versuchen wurde der Leberbrei zur Verdauung mit Pepsin (Fairchild) + 3‰ HCl, resp. mit Trypsin (Pankreatin Rhenania) + 8‰ Na_2CO_3, ferner mit Steapsin (Grübler) und Ricinlipase (Connstein) versetzt. Nach 5 tägigem Aufenthalte im Brutschranke wurden die Spaltungsgemische nach entsprechender Neutralisation mit dem 5 fachen Volumen Alkohol gefällt und die alkoholischen Extrakte ausgewertet. Geprüft wurde auf Komplementablenkung mit einem nach der Wassermannschen Originalmethode stark positiv reagierenden luetischen Serum.

Versuchsergebnisse.

I. Mit autolysierten Organextrakten.

1. Alkoholextrakt der frischen, der 4 Tage, 7 Tage und 13 Tage autolysierten Leberpartien.

Die bei der Auswertung dieser Extrakte gewonnenen Zahlen sind in der folgenden Tabelle Nr. I zusammengestellt und in Kurve I ersichtlich gemacht.

Tabelle I[1]).

Antigenmenge	0,1	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,02	0,01	0,008	0,006
Unverändert	++++	++++	+++	+++	++	+	0	0	0	0
4 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	0
7 Tage Autolyse	+++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	0
13 Tage Autolyse	++	+++	++	++	0	0	0	0	0	0

Zeichenerklärung für Tabelle I bis VII.

++++ keine Lyse — ++ kleine Kuppe
+++ große Kuppe — + fast vollkommene Lyse
0 vollkommene Lyse.

[1]) Jedes Röhrchen enthält außer der angegebenen Antigenmenge noch 0,2 ccm inaktiviertes Luetikerserum, 0,04 ccm Meerschweinchenkomplement, 0,2 ccm der 2,5 fach lösenden Ambozeptorverdünnung und 0,2 ccm 5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Das Flüssigkeitsvolumen ist durch NaCl-Lösung in jedem Röhrchen auf 2 ccm gebracht.

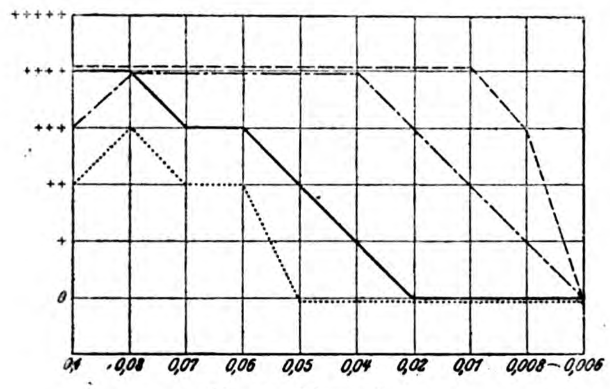


Fig. 1. Kurve I.

Zeichenerklärung der Kurven I bis VI.

———— = Alkohol. Extrakt aus frischer Leber
— — — — = „ „ „ 4 tägigem Autolysat
—·—·—·— = „ „ „ 7 tägigem Autolysat
·········· = „ „ „ 13 tägigem Autolysat.

Wir sehen aus dieser Zusammenstellung, daß die Brauchbarkeit eines und desselben Organs als Substrat für das Antigen bei der Wassermannschen Reaktion durch Autolyse weit gehend verändert wird. Kurzdauernde Selbstverdauung macht es wesentlich geeigneter; mit dem weiteren Fortschreiten der Digestion nimmt jedoch die Brauchbarkeit wieder ab, so daß der Extrakt aus der vollständig autolysierten Leber als Antigen überhaupt nicht mehr verwendbar ist. Das stimmt gut überein mit den Resultaten von Stühmer[1]), der fand, daß Meerschweinchenlebern nach langdauernder langsamer, bakterieller Digestion in der Kälte einen guten Extrakt, bei rascher Verdauung im Brutschranke aber wenig brauchbare Antigene geben. Analog ist auch der Befund von Ehrmann und Stern[2]), daß Lebern von an akuter gelber Leberatrophie gestorbenen Menschen ein ebenso gutes Antigensubstrat sind wie luetische Fötallebern.

Um einen Anhaltspunkt zu gewinnen, welche Veränderungen bei der Autolyse es sind, die für dieses Verhalten verantwortlich sind, wurden die verschiedenen Extrakte in der oben angeführten Weise fraktioniert und die einzelnen Fraktionen

[1]) A. Stühmer, Centralbl. f. inn. Med. 1910.
[2]) Ehrmann und Stern, Berl. klin. Wochenschr. 1910.

auf ihre Brauchbarkeit als Antigene bei der Wassermannschen Reaktion geprüft.

2. Seifenfraktion.

Zunächst wurde die in Alkohol lösliche, in Äther unlösliche, hauptsächlich aus Seifen bestehende Fraktion ausgewertet. Die dabei erhaltenen Resultate sind in Tabelle II und Kurve II zusammengestellt.

Tabelle II.

Antigenmenge	0,1	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,008
Unverändert	+	+	+++	++++	+++	+	0	0	0	0
4 Tage Autolyse .	+	+	++	++	+++	++++	+++	+	0	0
7 Tage Autolyse .	0	+	+	++	++	+++	+++	++	+	0
13 Tage Autolyse .	0	0	0	+	+	++	+++	++	+	0

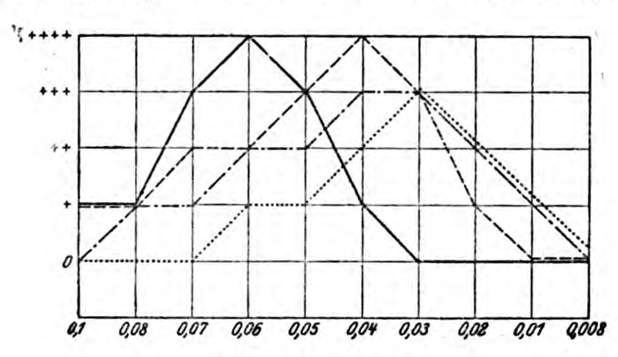


Fig. 2. Kurve II.

Ein Blick auf Kurve II lehrt, daß hier zwei entgegengesetzt wirkende Kräfte interferieren. In den höheren Konzentrationen wird die Komplementablenkung durch die Eigenlyse verdeckt; in den niederen tritt sie mehr oder weniger hervor. Bedenkt man, daß mit dem Fortschreiten der Autolyse der Gehalt an Seifen zunimmt, so wird der Verlauf der Kurven durchaus verständlich. Gleichzeitig aber kann man feststellen, daß die erhöhte Brauchbarkeit der autolysierten Organe nicht auf ihrem vermehrten Seifengehalte beruhen kann. Das wird besonders dadurch bewiesen, daß durch das am längsten autolysierte, also seifenreichste Antigen eine komplette Hemmung überhaupt nicht erzielt werden konnte. Sodann wurde

3. die in Alkohol, Äther und Aceton lösliche Fraktion

ausgewertet. Die Resultate sind aus Tabelle III und Kurve III ersichtlich.

Tabelle III.

Antigenmenge	0,1	0,08	0,06	0,04	0,03	0,02	0,01
Unverändert	++	++++	+++	+	0	0	0
4 Tage Autolyse .	++	++	++++	+++	++	0	0
7 Tage Autolyse .	++	+++	+++	+++	++	+	0
13 Tage Autolyse .	+	++	+++	+++	+++	++	0

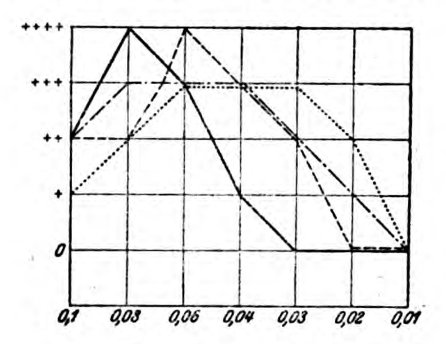


Fig. 3. Kurve III.

Auch in dieser Fraktion wirken in den höheren Konzentrationen Eigenlyse und antigene Wirkung einander entgegen. Man erkennt ferner ohne weiteres, daß es nicht diese, aus Fettsäuren, Neutralfetten. und Cholesterinverbindungen bestehende Fraktion allein sein kann, auf die die „Antigenwirkung“ der unveränderten und autolysierten Organextrakte zurückzuführen ist. So wurde denn

4. die in Alkohol und Äther lösliche, in Aceton unlösliche Fraktion

untersucht. Einen Überblick über diese Versuche gibt Tabelle IV und Kurve IV.

Tabelle IV.

Antigenmenge	0,1	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,008	0,006
Unverändert . . .	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	0	0
4 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+
7 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	0	0	0
13 Tage Autolyse	++++	++++	+++	+++	+	0	0	0	0	0	0

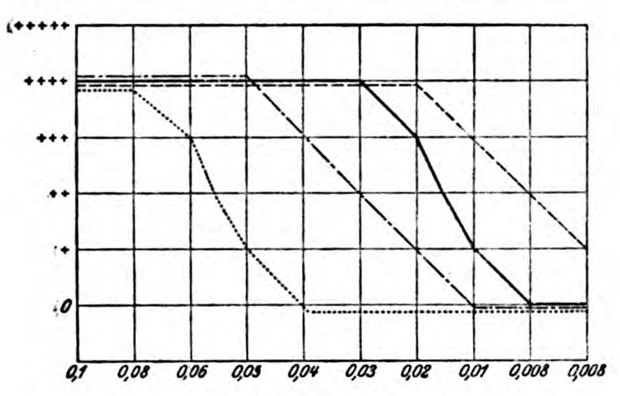


Fig. 4. Kurve IV.

Vergleicht man Tabelle und Kurve IV mit Tabelle und Kurve I, so fällt zunächst auf, daß die aus der unveränderten Leber isolierte Lipoidfraktion mehr als zweimal so wirksam ist wie der Originalauszug (komplette Hemmung bei 0,03 gegen 0,08). Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß ursprünglich die antigene Wirkung der Lipoide durch andere entgegengesetzt wirkende Substanzen verdeckt wird, oder aber darauf, daß sie in der frischen Leber nicht frei, sondern an andere Körper gebunden und daher unwirksam sind; durch die zur Darstellung der einzelnen Fraktionen vorgenommenen Eingriffe könnte diese Bindung gelöst und die Lipoide dadurch frei und wirksam geworden sein. Für diese letztere Annahme spricht, daß auch durch einfache Autolyse, durch die ja sicherlich derartige lose Bindungen schon sehr frühzeitig gesprengt werden, die Wirksamkeit der Antigensubstrate wesentlich zunimmt. Damit stimmt ferner gut überein, daß die Lipoidfraktionen aus den 4- und 7tägigen Autolysaten nicht wirksamer sind als ihr Ausgangsmaterial. Hier, wo die acetonfällbare Fraktion bereits infolge der Digestion nicht mehr an andere Körper gekuppelt ist, bedarf es keiner besonderen Einwirkungen mehr, um sie in die wirksame, freie Form zu bringen. Aus dem Umstand, daß die Reaktionsbreite dieser Fraktion hinter der des ursprünglichen Extraktes aus dem 4- und besonders aus dem 7tägigen Autolysat zurückbleibt, kann man wohl schließen, daß es nicht die Lipoide allein sind, auf die es ankommt. Bemerkenswert ist endlich das Verhalten

des Produktes der 13 Tage dauernden Selbstverdauung. Während der unveränderte Extrakt in keiner der geprüften Mengen ein brauchbares Antigen liefert, sind die beiden höchsten Konzentrationen der Lipoidfraktion verwendbar. Man muß wohl annehmen, daß beim Gesamtextrakt die Wirksamkeit dieser Fraktion durch einen Überschuß entgegengesetzt wirkender Substanzen verdeckt wird.

Von den untersuchten Fraktionen haben sich die Lipoide als die wirksamsten erwiesen. Dieser Befund deckt sich mit dem von Noguchi und Bronfenbrenner[1]), die in üblicher Weise hergestellte alkoholische Organextrakte fraktioniert und die acetonunlösliche Fraktion als Antigen empfohlen haben.

Zur weiteren Aufklärung der Wirkung der Gesamtextrakte schien es aber nun notwendig, den Effekt der Kombination dieser Fraktion mit den andern zu prüfen. So zeigen denn Tabelle und Kurve V und VI die Wirksamkeit eines Gemenges von gleichen Teilen der Fraktionen II (Seifen) und IV (Lipoide) resp. von III (alkohol-, äther-, acetonlösliche Substanzen [Fettsäuren, Neutralfette, Cholosterin]) und IV (Lipoide).

Tabelle V.

Menge von Fraktion II und IV als Antigen je	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	0,008	0,006	0,004	0,003	0,002
Unverändert	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	+	0	0
4 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	0
7 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	0	0	0
13 Tage Autolyse	+++	++++	+++	++	0	0	0	0	0	0

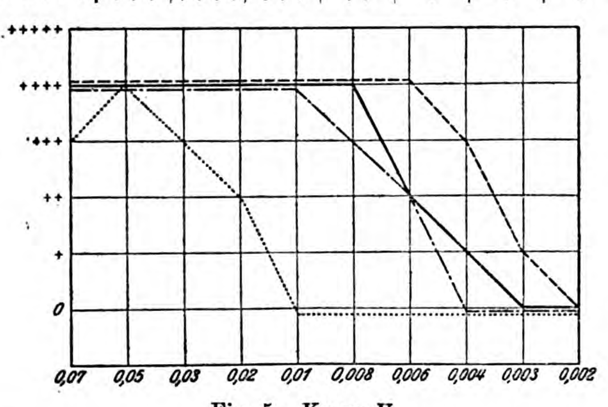


Fig. 5. Kurve V.

---

[1]) H. Noguchi und Bronfenbrenner, Journ. of exp. Med. **1911, 43.**

Tabelle VI.

Menge von Fraktion III und IV je	0,06	0,04	0,02	0,01	0,008	0,006	0,004	0,002	0,001	0,0005
Unverändert	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	0
4 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	0
7 Tage Autolyse	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	0	0
13 Tage Autolyse	++++	++++	++++	+++	++	0	0	0	0	0

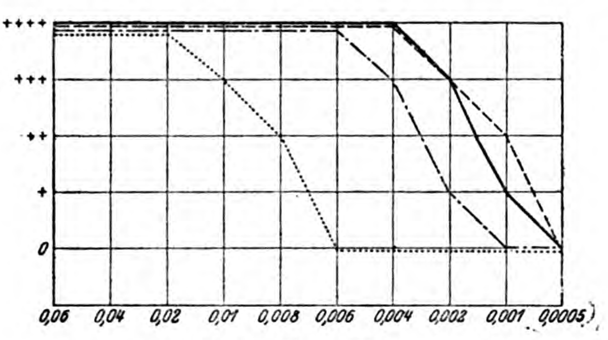


Fig. 6. Kurve VI.

Die beiden vorstehenden Kurven zeigen, in wie beträchtlichem Maße die antigene Wirkung der Lipoidfraktion durch den Zusatz von Seifen resp. von Fettsäuren, Neutralfetten und Cholesterinen erhöht wird. Während bei Verwendung der Lipoidfraktion allein komplette Hemmung der Hämolyse erst erzielt wird durch Antigenmengen von 0,03 ccm bei nicht autolysiertem Substrat, von 0,02 ccm bei 4 tägiger Autolyse, von 0,05 ccm bei 7 tägiger und von 0,08 ccm bei 13 tägiger Selbstverdauung, sind die entsprechenden Werte bei Zusatz von Seifenfraktion zu den Lipoiden: 0,008, resp. 0,006, 0,01 und 0,05 ccm. Fügt man statt der Seifenfraktion die Fettsäure-Cholesterinfraktion zu den Lipoiden, dann erhält man noch niederere Werte, nämlich 0,004, resp. 0,004, 0,006 und 0,02 ccm.

Aus diesen Versuchen kann man wohl schließen, daß macerierte und autolysierte Organe deshalb wirksamere „Antigene" für die Wassermannsche Reaktion geben als frische, weil in ihnen Lipoide, Seifen, Fettsäuren, Neutralfette und Cholesterine in einem bestimmten Mengenverhältnisse zueinander stehen. Dieses Verhältnis entsteht bei unvollständiger

Autolyse und ergibt sich dann, wenn die Lipoide einerseits aus den Lipoid-Eiweißverbindungen frei geworden, anderseits aber noch nicht in zu hohem Maße aufgespalten worden sind. Die Lipoide scheinen die für die Reaktion wichtigste Fraktion zu sein, doch wird ihre Reaktionsbreite durch die anderen Körper wesentlich erhöht[1]). Es dürften also weder die Eiweißkörper noch ihre Abbauprodukte eine integrierende Bedeutung für die Brauchbarkeit der Extrakte zur Wassermannschen Reaktion haben. Um hierüber etwas Genaueres zu erfahren, wurden in der zweiten Versuchsreihe Hundelebern der Einwirkung heterogener Fermente und Substanzen ausgesetzt.

II. Einwirkung heterogener Fermente und Substanzen.

Die Leber eines normalen Hundes wird in sieben Teile geteilt.

Teil I: 50 g werden mit 250 ccm 95 $^0/_0$igen Alkohols geschüttelt und filtriert.

Teil II: 30 g werden mit 100 ccm 0,8 $^0/_0$iger Na_2CO_3-Lösung durch 5 Tage unter Toluol bei 37^0 stehen gelassen, dann mit HCl neutralisiert und auf 210 ccm mit NaCl-Lösung aufgefüllt und filtriert.

Teil III: 35 g werden mit 100 ccm 0,8 $^0/_0$iger Na_2CO_3-Lösung und 2,0 g Trypsin durch 5 Tage unter Toluol bei 37^0 stehen gelassen, neutralisiert und auf 245 ccm mit NaCl-Lösung aufgefüllt und filtriert.

Teil IV: 40 g werden mit 100 ccm 0,8 $^0/_0$iger HCl-Lösung durch 5 Tage bei 37^0 stehen gelassen, mit Na_2CO_3-Lösung neutralisiert und auf 280 ccm mit NaCl-Lösung aufgefüllt und filtriert.

Teil V: 30 g werden mit 100 ccm 0,8 $^0/_0$iger HCl-Lösung und 2,0 g Pepsin durch 5 Tage bei 37^0 stehen gelassen, mit NaCl-Lösung auf 210 ccm aufgefüllt und filtriert.

Teil VI: 35 g werden mit 15 g Steapsinlösung und 85 ccm NaCl-Lösung durch 5 Tage bei 37^0 stehen gelassen, auf 245 ccm aufgefüllt und filtriert.

Teil VII: 30 g werden mit 8 g Ricinlipase und 92 ccm

[1]) H. Sachs und seine Schüler haben in einer Reihe von Arbeiten über künstliche Antigene ähnliche Befunde erhoben.

NaCl-Lösung durch 5 Tage bei 37° stehen gelassen, auf 210 ccm aufgefüllt und filtriert.

Diese 7 Teile werden in der oben beschriebenen Weise auf ihre Wertigkeit als „Antigen" bei der Wassermannschen Reaktion ausgewertet. Die Resultate sind aus Tabelle VII und Kurve VII ersichtlich.

Tabelle VII.

Verwendete Antigenmenge	0,1	0,08	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,008	0,006
Unverändert. Alkoholextr.	++++	++++	++++	++++	++	+	0	0	0	0
Na_2CO_3-Fraktion	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+
Trypsin-Fraktion	0	+	++	++	+	0	0	0	0	0
HCl-Fraktion	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	0	0	0
Pepsin-Fraktion	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	+	0	0
Steapsin-Fraktion	+	++	++	+	0	0	0	0	0	0
Rhicin-Fraktion	+++	++++	++++	+++	++	0	0	0	0	0

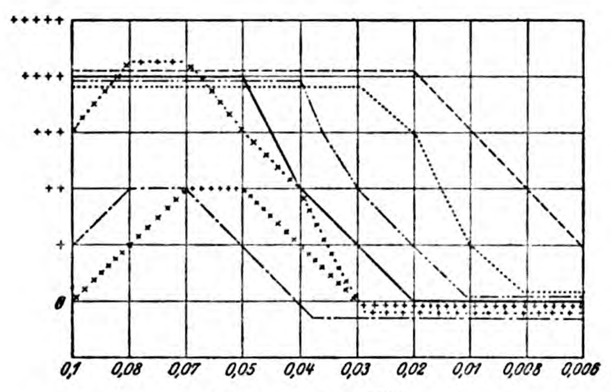


Fig. 7. Kurve VII.

Zeichenerklärung der Kurve VII.

———— = Unveränderter Alkoholextrakt
– – – – – = Na_2CO_3-Fraktion
++++++ = Na_2CO_3- + Trypsin-Fraktion
—··—··— = HCl-Fraktion
.... = HCl- + Pepsin-Fraktion
—·—·—·— = Steapsin-Fraktion
+·+·+·+ = Ricin-Fraktion.

In dieser Versuchsreihe ist zunächst bemerkenswert, daß die bloß mit Soda versetzte Fraktion sich so verhält, als ob sie ohne jeden Zusatz der Autolyse überlassen worden wäre.

Der Trypsin-Soda-Digestion dagegen hält das Antigen nicht stand, allem Anscheine nach, weil bei ihr mit den Eiweißkörpern auch die Lipoide vollständig abgebaut werden. Daß der Verlust der Wirksamkeit als Antigen nicht auf den Abbau der Eiweißkörper zurückzuführen ist, geht schon daraus hervor, daß die Pepsin-Salzsäureverdauung die Reaktionsbreite des Extraktes sogar erweitert. In gleichem Sinne spricht wohl auch, daß die Verdauung mit Steapsin die Wirksamkeit aufhebt; die Ricinlipase dagegen scheint in den von uns verwendeten Präparaten die Lipoide wenig anzugreifen.

Faßt man die Resultate aller dieser Versuchsreihen zusammen, so kommt man zu folgenden Ergebnissen:

1. Extrakte aus unvollständig autolysierten Organen erweisen sich als weit bessere „Antigene“ bei der Wassermannschen Reaktion als die Auszüge aus frischen Organen. Dauert die Digestion zu lange, so nimmt die Reaktionsbreite der Antigene wieder ab und wird endlich gleich Null.

2. Weder die alkohollöslichen, ätherunlöslichen, hauptsächlich aus Seifen bestehenden, noch die alkohol-, äther- und acetonlöslichen, Fettsäuren, Neutralfette und Cholesterine enthaltenden Fraktionen der unveränderten und der autolysierten Lebern allein geben ein Antigen von entsprechender Reaktionsbreite.

3. Die Lipoidfraktionen aus den frischen Organen sind ein viel brauchbareres Antigen als diese selbst; im Gegensatz dazu sind die Lipoidfraktionen der kurz autolysierten Organe den entsprechenden Gesamtextrakten nicht überlegen.

4. Mengt man gleiche Teile der Lipoid- mit der Seifenresp. Fettsäure-Cholesterinfraktion, so erhält man Antigene, deren Reaktionsbreite alle anderen weit übertrifft.

5. Trypsin- + Soda- sowie Steapsinverdauung berauben ein Organ der Fähigkeit, wirksame Extrakte zu liefern, während die von uns verwendete Ricinlipase, Pepsin + Salzsäure, Salzsäure oder Soda allein in den physiologischen Konzentrationen die Reaktionsbreite der Organextrakte nicht verkleinern.

Zur Kenntnis des biologischen Verhaltens von Convolvulin und Jalapin.

Von

G. Heinrich aus Herrnstadt.

Aus dem Institute für Pharmakologie und physiol. Chemie zu Rostock.)

(Eingegangen am 14. Februar 1918.)

1. Einiges Chemische über Convolvulin und Jalapin.
2. Über die Wirkung von Jalapin und Convolvulin auf Blut:
   - a) Versuche mit Menschenblut und Jalapin,
   - b) " " " " Convolvulin,
   - c) " " Rinderblut " Jalapin,
   - d) " " Schweineblut " "
   - e) " " Kaninchenblut " "
   - f) " " Hammelblutkörperchen und Jalapin,
   - g) " " Rinderblut und Convolvulin,
   - h) " " Kaninchenblut und "
   - i) " " Hammelblutkörperchen und Convolvulin.
3. Über die Wirkung von Jalapin und Convolvulin auf Fische:
   - a) Fischversuche mit Jalapin,
   - b) " " Convolvulin.
4. Über den Nachweis von Jalapin und Convolvulin.

Die Versuche zu nachstehender Arbeit wurden schon vor dem Kriege von mir angestellt. Prof. Kobert hat sie später nachgeprüft und bestätigt. Durch den Krieg wurde eine frühere Veröffentlichung verhindert.

1. Einiges Chemische über Convolvulin und Jalapin.

Das Jalapin ist ein Glykosid erstens der sogen. Jalapenstengel, Stipites Jalapae, von Convolvulus Orizabensis, zweitens des Scammonium, d. h. des eingetrockneten Milchsaftes von Convolvulus Scammonia, drittens der echten Jalapenknollen, Tubera Jalapae, von Exogonium

Purga, jedoch ist es in letzteren nur zu sehr geringen Mengen enthalten.

Das Glykosid Convolvulin ist der Hauptbestandteil der eben genannten Tubera Jalapae. Da es von Buchner als Jalapin bezeichnet worden ist, sind manche Verwechslungen beider Stoffe in der Literatur vorgekommen.

Das Jalapin $C_{34}H_{56}O_{16}$ und das Convolvulin $C_{37}H_{60}O_{16}$ (Spirgatis und Mayer) oder $C_{54}H_{96}O_{27}$ (Höhnel, van Rijn) sind weiße, in Alkohol gut lösliche, in Wasser aber unlösliche Pulver, die in vielen chemischen Beziehungen sich ähnlich verhalten. Auch pharmakologisch sind sie nahe verwandt, indem beide innerlich genommen als Abführmittel wirken. Für die Verwendung am Menschen wird die convolvulinreiche Jalapenknolle bevorzugt.

In Äther und in Chloroform ist das Jalapin leicht löslich, Convolvulin aber unlöslich. Konz. Schwefelsäure löst das Jalapin langsam mit purpurroter Farbe. Kochende Salpetersäure zersetzt es unter Bildung von Oxalsäure, Isobuttersäure und Sebacinsäure. Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat entsteht Isobuttersäure, Oxyisobuttersäure und Oxalsäure. Das Convolvulin löst sich in konz. Schwefelsäure amarantrot. Dampft man das Convolvulin mit Salzsäure ab und versetzt den grauen Rückstand mit konz. Schwefelsäure, so färbt er sich kirschrot.

Kochen mit verdünnten Mineralsäuren spaltet das Jalapin unter Wasseraufnahme in Zucker und Jalapinolsäure $C_{34}H_{56}O_{16} + 5H_2O = 3C_6H_{12}O_6 + C_{16}H_{30}O_3$. Die Jalapinolsäure ist eine einbasische Säure, die gut krystallisiert und bei 62° schmilzt. Das Convolvulin spaltet sich beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren in Zucker und schwachsaures Convolvulinol $C_{13}H_{24}O_3$. Letzteres ist zunächst ölig, erstarrt aber dann und kann aus Alkohol und aus Äther in Krystallen gewonnen werden.

Beim Auflösen des Jalapins in wäßrigen Alkalien, in alkalischen Erden oder in Ammoniak wird es unter Aufnahme von 2 Mol. Wasser in die vierbasische Jalapinsäure $C_{34}H_{60}O_{18}$ übergeführt. Jalapin ist daher als das Anhydrid der Jalapinsäure anzusprechen. Diese Säure löst sich in Gegensatz zu ihrem Anhydrid leicht in Wasser. Ob sie bei Anwesenheit von überschüssigen Alkalien rasch weiter umgewandelt und in unwirksame Spaltungsprodukte zerlegt wird, ist unbekannt. Das Convolvulin dagegen wird durch Alkalien sowie durch Barytwasser tiefgreifend zerlegt, und zwar in Zucker, Methyläthylessigsäure $C_5H_{10}O_2$, Purginsäure $C_{25}H_{46}O_{12}$ und Convolvulinsäure $C_{45}H_{80}O_{23}$. Diese letztere wieder liefert beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren Zucker und Convolvulinolsäure $C_{15}H_{30}O_3$. Die Purginsäure zerfällt beim Hydrolisieren mittels verdünnter Mineralsäuren in Zucker, Decylensäure $C_{10}H_{18}O_2$ und Oxylaurinsäure $C_{12}H_{24}O_3$. Die Convolvulinolsäure liefert bei

Oxydation mit Kaliumpermanganat Ipomsäure $C_{10}H_{18}O_4$ und die schon genannte Methyläthylessigsäure $C_5H_{10}O_2$.

Die Ansicht der Dorpater Schule geht seit Jahrzehnten dahin, daß der Übergang des Convolvulins und des Jalapins aus dem Anhydrid in das Hydrat bzw. in Zerfallsprodukte die Darmschleimhaut reizt und dadurch die Abführwirkung bedingt. Intaktheit des Anhydrides bei der Eingabe ist also für das Zustandekommen einer ordentlichen Abführwirkung die conditio sine qua non. In Jalapenpillen, die mit nicht neutraler Seife hergestellt sind, geht unweigerlich eine Hydratisierung und damit ein Unwirksamwerden der wirksamen Bestandteile vor sich.

Nachdem Kobert schon vor Jahrzehnten darauf hingewiesen hat, daß Convolvulin und Jalapin, vorsichtig in Alkalien gelöst, hämolytische Wirkungen besitzen und nachdem er vor kurzem die exquisit hämolytischen Wirkungen einer anderen Harzsäure, der Agaricinsäure, ausführlich beschrieben hat, schien es ihm ratsam, Convolvulin und Jalapin nach dieser Richtung hin nochmals eingehend zu prüfen, denn es war zu vermuten, daß die Stärke der abführenden Wirkung proportional der der hämolytischen Kraft abnimmt. Falls sich dies bestätigen sollte, könnte der hämolytische Versuch zur Bewertung von Handelspräparaten der Jalapengruppe mitbenutzt werden.

Zu den von mir angestellten Versuchen über Jalapin und Convolvulin habe ich das von Gehe in Dresden käufliche Jalapin und Convolvulin benutzt. Das Jalapin, das von der Fabrik auch unter dem Namen Resina Jalapae e tubere levi in den Handel gebracht wird, wird aus den Stipites Jalapae von Ipomoea orizabensis dargestellt. Das Convolvulin, das von der Fabrik auch unter der Bezeichnung Resina Jalapae e tubere ponderoso geführt wird, wird aus den Tubera Jalapae von Ipomoea Purga gewonnen.

Beide Präparate sind weiße Pulver; sie sind, wie oben gesagt wurde, Säureanhydride, die ihrer Unlöslichkeit wegen in Form ihrer Hydrate als Natriumsalze verwendet wurden. Diese Eigenschaft der beiden Substanzen, unter sehr vorsichtiger Einwirkung von Alkalien in Lösung zu gehen, habe ich benutzt, mir zu meinen Versuchen neutrale Lösungen in physiologischer Kochsalzlösung herzustellen. Die ersten Versuche, die ich mit mehreren solchen Lösungen anstellte, ergaben ver-

schiedene Resultate. So wichen die Ergebnisse bei den Untersuchungen mit Blut in bezug auf die hämolytische Wirkung des Jalapins und Convolvulins bei jeder der beiden Substanzen trotz gleichen Prozentgehaltes und bei derselben Blutsorte bei den Wiederholungsversuchen voneinander ab. Ich schrieb diese Verschiedenheit der Ergebnisse bei derselben Blutart und derselben Substanz im Anfang einer sich ändernden Empfindlichkeit der Blutarten zu. Bei einigen Versuchen jedoch, bei denen ich gleichzeitig dasselbe Blut, aber nicht dieselben Lösungen meiner Substanzen benutzte, trat trotzdem nicht dasselbe Resultat ein. An der wechselnden Zusammensetzung oder Empfindlichkeit des Blutes konnte es also nicht liegen. Nun glaubte ich, daß das Alter der Lösungen die abweichenden Resultate verursachen könnte, d. h. daß Lösungen meiner Substanzen, die länger stehen, in ihrer Wirkung entsprechend dem Alter beeinträchtigt werden könnten.

Bei Benutzung derselben Blutsorte und verschieden alter Lösung jedoch ergab sich, daß eine ältere Lösung bei derselben Verdünnung schneller hämolytisch wirkte als eine frisch hergestellte. Es konnte also nur an der Herstellung der Lösung liegen, und so fand ich, was ja auch von vornherein zu erwarten war, daß man möglichst wenig Natronlauge zur Lösung verwenden soll, d. h. eben nur so viel, als gerade zur Lösung und Neutralisierung der Substanzen notwendig ist, und daß jeder Überschuß die Wirkung der Lösung wesentlich beeinträchtigt. Späteres Zurückneutralisieren macht diesen Fehler nicht wieder gut.

Ich führe unten auch die ersten Versuche an, bei denen ich die Natronlauge nicht genau abgemessen habe, um zu zeigen, wie empfindlich beide Substanzen gegen Natronlauge sind, und wie im Gegensatz dazu bei richtiger Dosierung die Wirkung beider Substanzen stärker ist.

Man stellt sich die Lösungen am besten in der Weise her, daß man zu der Substanz nur wenig physiologische Kochsalzlösung zugießt und tropfenweise unter Reiben etwas weniger Natronlauge zusetzt, als ein Vorversuch als nötig ergeben hatte. Mit dieser Natronmenge verreibt man die Substanz, bis sie sich fast vollkommen gelöst hat, und filtriert. Wo ich im nachstehenden von Convolvulin oder Jalapin rede, sind stets der-

artig hergetellte Lösungen in physiologischer Kochsalzlösung gemeint.

2. Über die Wirkung von Jalapin und Convolvulin auf Blut.

Bei sämtlichen Versuchen dieses Kapitels wurden immer eine Reihe von Reagensgläschen mit mindestens je 5 ccm Flüssigkeit gefüllt und zu jedem Gläschen entweder 2 Tropfen Blut (defibriniert, möglichst frisch), immer aus derselben Pipette, getropft, die 20 Tropfen pro ccm lieferte, oder es wurde 2%ige Blutkochsalzmischung zugesetzt. Mindestens ein Glas enthielt als Kontrolle nur physiol. Kochsalzlösung, die anderen ein Gemisch von dieser mit der Lösung unserer Glykoside in physiol. Kochsalzlösung. Sie wurden sofort nach dem Einfüllen einmal umgeschüttelt und blieben dann bei 15° ruhig stehen. Nach spätestens 24 Stunden wurde der Erfolg notiert.

Die ersten 7 Versuche, bei denen ich noch nicht die Herstellung der Glykosidlösungen ausprobiert hatte, ergaben ungemein abweichende Ergebnisse, ja in einigen Fällen war die Wirkung fast Null. Ich führe diese nicht an, sondern nur die mit sehr sorgfältig, also unter Vermeidung jedes Alkaliüberschusses hergestellten Lösungen gemachten Experimente.

a) Versuche mit Menschenblut und Jalapin.

Alle Blutproben entstammten der Placenta und waren defibriniert. Bis zum Gebrauch wurden sie auf Eis aufgehoben.

Versuch 1.

Es wird eine 1%ige Jalapinlösung in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Ferner werden zu 98 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung 2 ccm menschliches Placentarblut zugesetzt.

Glas 1: (Kontrollglas) 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl
Glas 2: 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Jalapinlösung (Konz. 1:300)
Glas 3: 3 „ „ + 1 „ „ („ 1:400)
Glas 4: 4 „ „ + 1 „ „ („ 1:500)
und so fort, immer steigend um 1 ccm Blutgemisch bis
Glas 13: 13 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Jalapinlösung („ 1:1400)

Ergebnis: Es tritt in allen Gläsern sofortige Hämolyse ein, auch noch bei 1:1400.

Versuch 2.

Es werden vier Reihen mit regelmäßig steigenden Blutmengen aufgestellt.

Ergebnis: In allen Gläsern tritt sofortige Hämolyse ein, jetzt auch bei einer Konzentration von 1:3500.

Versuch 3.

Es wird aus der 1 %igen eine $^1/_5$ %ige Jalapinlösung hergestellt; ferner werden 196 ccm physiol. NaCl-Lösung mit 4 ccm Placentarblut gemischt.

Glas 1: (Kontrollglas) 6 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl

Glas 2: 6 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_5$ %ige Jalapinlösung. Konz. 1:3500

Glas 3: 7 „ „ + 1 „ „ „ 1:4000

und so fort, steigend anfangs um 1 ccm Blutgemisch, da sofortige Hämolyse eintritt, bei den späteren Gläsern um 2 ccm Blutgemisch bis 25 ccm + 1 ccm $^1/_5$ %ige Jalapinlösung. Konz. im letzten Glas 1:13000.

Ergebnis: Jalapin wirkt noch bei einer Verdünnung von 1:13000 total hämolytisch.

Versuch 4.

Es wird eine $^1/_{10}$ %ige Jalapinlösung hergestellt; Blutgemisch wie vorhin.

Glas 1: (Kontrollglas) 12 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.

Glas 2: 12 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Jalapinlösung Konz. 1:13000

Glas 3: 14 „ „ + 1 „ $^1/_{10}$ %ige „ „ 1:15000

und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch bis

Glas 13: 22 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Jalapinlösung Konz. 1:23000

Ergebnis: In allen Gläsern erfolgt allmählich totale Hämolyse, also auch noch bei 1:23000.

Versuch 5.

Es werden verwandt eine $^1/_{20}$ %ige Jalapinlösung sowie dasselbe Blutgemisch wie vorher.

Glas 1: (Kontrollglas) 10 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl

Glas 2: 10 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{20}$ %ige Jalapinlösung Konz. 1:22000

Glas 3: 11 „ „ + 1 „ $^1/_{20}$ %ige „ „ 1:24000

und so fort, steigend immer um 1 ccm Blutgemisch bis

Glas 13: 21 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{20}$ %ige Jalapinlösung Konz. 1:44000

Ergebnis: Bei Glas 9 (Konzentration 1:36000) ist nach 24 Stunden noch totale Hämolyse eingetreten, in den folgenden Gläsern ist die Hämolyse wenigstens noch partiell erfolgt.

Versuch 6.

Es werden verwandt eine $^1/_{20}$ %ige Jalapinlösung sowie dieselbe Blut-Kochsalzlösung.

Glas 1: (Kontrollglas) 10 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl
Glas 2: 10 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{20}$%ige Jalapinlösung
Konz. 1:22000
Glas 3: 12 „ „ + 1 „ $^1/_{20}$%ige „ „ 1:26000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch bis
Glas 7: 20 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{20}$%ige Jalapinlösung
Konz. 1:42000

Ergebnis: Es tritt noch totale Hämolyse ein bei 1:38000; bei 1:42000 ist die Hämolyse partiell.

Versuch 7.

Der vorige Versuch wird wiederholt, nur wird eine Jalapinlösung benutzt, die schon 2 Monate früher hergestellt war.

Das Resultat ist dasselbe wie beim vorigen Versuch, also totale Hämolyse bei 1:38000, partielle bei 1:42000.

Ergebnis: Eine richtig hergestellte Jalapinlösung wirkt, auch wenn sie schon fast 2 Monate gestanden hat, noch ebenso stark hämolytisch wie eine frisch hergestellte.

Gesamtergebnis.

Von der Firma Gehe bezogenes, mit großer Vorsicht gelöstes Jalapin, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, wirkt auf Menschenblut bei Zimmertemperatur noch in einer Verdünnung von **1:38000** langsam, aber total hämolytisch. Das verwandte Blut stammte stets aus der Placenta und war nie von Serum befreit, sondern nur defibriniert.

b) Versuche mit Menschenblut und Convolvulin.

Versuch 8.

Zu diesem 1. Versuche, bei dem eine Reihe von 10 Gläschen aufgestellt wurde, wurde eine Convolvulinlösung verwandt, bei der das Convolvulin unter Erwärmen in einem geringen Laugenüberschuß gelöst worden war.

Ergebnis: Es trat hier keine Hämolyse ein, auch nicht bei einer Konzentration von 1:200.

Bei einer Reihe weiterer Versuche wurde das Convolvulin zwar ohne Erwärmen, aber doch unter Zusatz von überschüssiger Natronlauge, die nachher durch Salzsäure wieder beseitigt wurde, gelöst. Auch hier war das hämolytische Ergebnis gering; die Wirkung ging nicht über 1:1200 hinaus.

Die folgenden Versuche wurden mit einer Convolvulin-

lösung gemacht, bei der ohne Erwärmen nur so viel Natronlauge zugesetzt wurde, als gerade zur fast völligen Lösung des Convolvulins notwendig war.

Versuch 9.

Es werden verwandt: eine 2 Tage vorher hergestellte 1%ige Convolvulinlösung sowie 2%iges Placentarblut.

Glas 1: (Kontrollglas) 4 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 4 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Convolvulinlösung Konz. 1:500
Glas 3: 5 „ „ + 1 „ 1%ige „ „ 1:600
und so fort, immer steigend um 1 ccm Blutgemisch bis
Glas 11: 13 cm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Convolvulinlösung „ 1:1400

Ergebnis: Es tritt in allen Gläsern totale Hämolyse ein, in Glas 11 bei einer Konzentration von 1:1400 nach 7 Minuten, in den anderen noch früher.

Fortsetzung desselben Versuches.

Glas 1: (Kontrollglas) 7 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 14 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Convolvulinlösung Konz. 1:1500
Glas 3: 16 „ „ + 1 „ 1%ige „ „ 1:1700
und so fort, steigend um 2 ccm Blutgemisch bis
Glas 6: 22 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Convolvulinlösung Konz. 1:2300

Ergebnis: Es tritt in allen Gläsern totale Hämolyse und zwar selbst in Glas 6 bei einer Konzentration von 1:2300 schon nach 15 Minuten ein.

Versuch 10.

1%ige Convolvulinlösung und 2%iges Placentarblut.

Glas 1: (Kontrollglas) 3 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 3 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/5%ige Convolvulinlösung Konz. 1:2000
Glas 3: 4 „ „ + 1 „ 1/5%ige „ „ 1:2500
und so fort, steigend immer um 1 ccm Blutgemisch bis
Glas 13: 15 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/5%ige Convolvulinlösung Konz. 1:8000

Ergebnis: Es tritt überall totale Hämolyse ein, auch noch bei 1:8000.

Versuch 11.

1/10%ige Convolvulinlösung und 2%iges Placentarblut.

Glas 1: (Kontrollglas) 7 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 7 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/10%ige Convolvulinlösung Konz. 1:8000
Glas 3: 9 „ „ + 1 „ 1/10%ige „ „ 1:10000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch bis
Glas 8: 19 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/10%ige Convolvulinlösung.

Ergebnis: Völlige Hämolyse erfolgte noch bei einer Konzentration von 1:20000.

Versuch 12.

$^1/_{10}$%ige Convolvulinlösung und 2%iges Placentarblut vom Menschen.
Glas 1: (Kontrollglas) 5 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 5 ccm Blutgemisch + $^1/_{10}$%ige Convolvulinlösung Konz. 1:6000
Glas 3: 6 „ „ + 1 ccm $^1/_{10}$%ige „ „ 1:7000
und so fort, steigend immer um 1 ccm Blutgemisch bis
Glas 10: 13 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$%ige Convolvulinlösung Konz. 1:14000

Ergebnis: Bei 1:6000 und 1:7000 totale Hämolyse; bei 1:8000 und 1:9000 partielle Hämolyse; in den übrigen Gläsern keine Hämolyse.

Gesamtergebnis.

Die Grenze der hämolytischen Wirkung des verwandten Convolvulins für Menschenblut liegt bei **1:8000**; die Wirkung ist also viel schwächer als die des Jalapins auf diese Blutart.

c) Versuche mit Rinderblut und Jalapin.

Jalapin- und Convolvulinlösungen, die unter Erwärmen hergestellt waren, übten, ebenso wie bei Menschenblut, auch bei Rinderblut keine hämolytische Wirkung aus. Einige Versuche mit Jalapin- und Convolvulinlösungen, bei denen Jalapin und Convolvulin zwar in der Kälte gelöst wurden, bei denen ich aber die zugesetzte Natronlauge nicht genau abgemessen habe, bezogen sich auf Blut von Mensch, Rind, Hund, Katze, Pferd und Meerschwein. Ich übergehe die Einzelheiten und führe nur so viel davon an, daß die hämolytischen Wirkungen gering waren. Auch hier zeigte sich eben, daß beide Substanzen nur bei vorsichtigem Zusatz von Natronlauge in stärkerer Verdünnung noch hämolytisch wirkten.

Versuch 13.

2%iges Rinderblut und 1%ige Jalapinlösung.
Glas 1: (Kontrollglas) 10 ccm Blutgemisch + $^1/_2$ ccm ClNa.
Glas 2: 10 ccm Blutgemisch + $^1/_2$ ccm 1%ige Jalapinlösung Konz. 1:2100
Glas 3: 15 „ „ + $^1/_2$ „ 1%ige „ „ 1:3100
Glas 4: 20 „ „ + $^1/_2$ „ 1%ige „ „ 1:4100
Glas 5: 25 „ „ + $^1/_2$ „ 1%ige „ „ 1:5100
Glas 6; 30 „ „ + $^1/_2$ „ 1%ige „ „ 1:6100

Ergebnis: Es tritt in allen Gläsern totale Hämolyse ein, also auch noch in Glas 6 bei einer Konzentration von 1:6100.

Versuch 14.

2%iges Rinderblut und 1/5%ige Jalapinlösung.
Glas 1: (Kontrollglas) 7 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 7 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/5%ige Jalapinlösung Konz. 1:4000
Glas 3: 8 " " + 1 " 1/5%ige " " 1:4500
und so fort, steigend immer um 1 ccm Blutgemisch bis
Glas 9: 15 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/5%ige Jalapinlösung " 1:8000

Ergebnis: Es tritt überall totale Hämolyse ein, auch bei 1:8000.

Versuch 15.

Der vorige Versuch wird wiederholt mit einer Jalapinlösung, die über 1 Monat alt ist.

Ergebnis: Es tritt dasselbe Resultat wie im vorigen Versuche ein: Hämolyse auch noch bei 1:8000.

Versuch 16.

2%iges Rinderblut und 1/20%ige Jalapinlösung.
Glas 1: (Kontrollglas) 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/20%ige Jalapinlösung
Konz. 1: 6000
Glas 3: 4 " " + 1 " 1/20%ige " " 1:10000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch bis
Glas 13: 24 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/20%ige Jalapinlösung.

Ergebnis: In den ersten Gläsern bis zu einer Konzentration von 1:14000 ist totale Hämolyse eingetreten, in den übrigen Gläsern ist die Hämolyse partiell.

Gesamtergebnis.

Das Jalapin wirkt in einer Konzentration von **1:14000** auf Rinderblut noch total hämolytisch.

d) Versuche mit Schweineblut und Jalapin.

Versuch 17.

2%iges Schweineblut und 1%ige Jalapinlösung.
Glas 1: (Kontrollglas) 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Jalapinlösung Konz. 1:300
Glas 3: 4 " " + 1 " 1%ige " " 1:500
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch bis
Glas 10: 18 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Jalapinlösung " 1:1900

Ergebnis: In allen Gläsern sofortige totale Hämolyse.

Der vorige Versuch wird fortgesetzt.
2 ccm Schweineblut + 98 ccm NaCl.
Glas 1: (Kontrollglas) 5 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 25 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Jalapinlösung Konz. 1:2600
Glas 3: 30 „ „ + 1 „ 1%ige „ „ 1:3100
Glas 4: 40 „ „ + 1 „ 1%ige „ „ 1:4100

Ergebnis: Es tritt in allen Gläsern auch hier totale Hämolyse, also auch bei 1:4100, und zwar nach 8 Minuten ein.

Gesamtergebnis.

Auf Schweineblut wirkt Jalapin noch bei **1:4100** total hämolytisch; ob noch bei weiterer Verdünnung, wurde nicht untersucht.

e) Versuche mit Kaninchenblut und Jalapin.

Versuch 18.

2% Kaninchenblut und 1/20 %ige Jalapinlösung.
Glas 1: (Kontrollglas) 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/20 %ige Jalapinlösung Konz. 1:6000
Glas 3: 4 „ „ + 1 „ 1/20 %ige „ Konz. 1:10000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch bis
Glas 13: 24 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1/20 %ige Jalapinlösung Konz. 1:50000

Gesamtergebnis.

Bei Kaninchenblut tritt totale Hämolyse ein bis zu **1:14000**, in den übrigen Gläsern ist die Hämolyse partiell.

f) Versuche mit Hammelblutkörperchen und Jalapin.

Versuch 19.

Es wird dieselbe Versuchsreihe aufgestellt wie beim vorigen Versuch, nur wird als Blutmischung 99 ccm NaCl + 1 ccm Hammelblutkörperchen verwandt. Die Hämolyse geht bis 1:18000.

Gesamtergebnis.

Während auf Menschenblut das Jalapin wiederholt noch bei **38000** facher Verdünnung total hämolytisch wirkte, trat dagegen die Wirkung auf Tierblut in bezug auf Intensität zurück. Auf Rinder- und auf Kaninchenblut wirkte das Jalapin nur noch bei 1:14000 total und selbst auf isolierte Körperchen des Hammels nur noch bei **1:18000**. Immerhin beweisen diese

Zahlen, daß eine gewisse Analogie zu Agaricinsäure und zu den Saponinen vorhanden ist.

Die folgenden Versuche sind mit Convolvulinlösungen angestellt worden, bei denen ich nur so viel Natronlauge zugesetzt habe, wie zur Hauptmenge des Convolvulins notwendig war.

g) Versuche mit Rinderblut und Convolvulin.

Versuch 20.

1%ige Convolvulinlösung und 2%iges Rinderblut.

Glas 1: (Kontrollglas) 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 1 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Convolvulinlösung
Konz. 1:200
Glas 3: 2 „ „ + 1 „ 1%ige „ Konz. 1:300
und so fort, steigend immer um 1 ccm Blutgemisch bis
Glas 14: 13 ccm Blutgemisch + 1 ccm 1%ige Convolvulinlösung
Konz. 1:1400

Ergebnis: Es tritt überall totale Hämolyse ein, auch noch bei 1:1400.

Versuch 21.

$^1/_5$ %ige Convolvulinlösung und 2%iges Rinderblut.

Glas 1: (Kontrollglas) 1 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 1 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_5$ %ige Convolvulinlösung
Konz. 1:1000
Glas 3: 2 „ „ + 1 „ $^1/_5$ %ige „ Konz. 1:1500
und so fort, steigend immer um 1 ccm bis
14 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_5$ %ige Convolvulinlösung Konz. 1:7500

Ergebnis: Es tritt überall totale Hämolyse ein, auch noch bei 1:7500.

Versuch 22.

$^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung und 2%iges Rinderblut.

Glas 1: (Kontrollglas) 6 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 6 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung
Konz. 1:7000
Glas 3: 8 „ „ + 1 „ $^1/_{10}$ %ige „ Konz. 1:9000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch, bis
Glas 8: 20 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung
Konz. 1:21000

Ergebnis: Es tritt totale Hämolyse ein in Glas 2 und 3 (Konzentration 1:7000 und 1:9000), in den übrigen Gläsern ist die Hämolyse partiell.

Gesamtergebnis.

Convolvulin wirkt auf Rinderblut noch in einer Konzentration von **1:9000** total hämolytisch.

h) Versuche mit Kaninchenblut und Convolvulin.

Versuch 23.

$^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung und 2%iges Kaninchenblut.
Glas 1: (Kontrollglas) 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 2 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung Konz. 1:3000
Glas 3: 4 „ „ + 1 „ $^1/_{10}$ %ige „ Konz. 1:5000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch, bis
18 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung Konz. 1:19000

Ergebnis: Totale Hämolyse bis 1:5000; in den übrigen Gläsern ist die Hämolyse partiell.

i) Versuche mit Hammelblutkörperchen und Convolvulin.

Versuch 24.

$^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung und 1%ige Hammelblutkörperchensuspension.
Glas 1: (Kontrollglas) 4 ccm Blutgemisch + 1 ccm NaCl.
Glas 2: 4 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung Konz. 1:5000
Glas 3: 6 „ „ + 1 „ $^1/_{10}$ %ige „ Konz. 1:7000
und so fort, steigend immer um 2 ccm Blutgemisch, bis
18 ccm Blutgemisch + 1 ccm $^1/_{10}$ %ige Convolvulinlösung Konz. 1:19000

Ergebnis: Totale Hämolyse bis 1:13000, partielle Hämolyse bis 1:17000, bei 1:19000 gar keine Hämolyse.

Gesamtergebnis.

Die Wirkung des Convolvulins auf Menschenblut, Rinderblut und Kaninchenblut sowie auf Hammelblutkörperchen ist schwächer als die des Jalapins. Sie geht bei Menschenblut bis **1:8000**, bei Rinderblut bis **1:9000**, bei Hammelblutkörperchen bis **1:13000.**

3. Über die Wirkung von Jalapin und Convolvulin auf Fische.

Zu den Versuchen benutzte ich zum größten Teil Plötze und nur in einigen Fällen Weißfische.

Auch hier zeigte sich der Unterschied in der Wirkung besonders bei Convolvulin, je nachdem nur gerade genug oder überschüssig Natronlauge zugesetzt war, als zur Lösung der beiden Substanzen notwendig war.

a) Fischversuche mit Jalapin.

Versuch 25.

Ein Fisch (Plötz) von etwa 12 cm Länge wird in 3 l frisches Brunnenwasser gesetzt, in dem er nach Erfahrung von anderen Plötzen tagelang leben kann, und diesem Wasser wird von einer 1 %igen Jalapinlösung 25 ccm zugesetzt. Die Konzentration ist also 1:12000.

Um 11^{15} a. m. wird der Fisch hineingesetzt.

Um 11^{40} a. m. liegt der Fisch auf der Seite. Er wird herausgenommen und in frisches Brunnenwasser gesetzt; er erholt sich nicht mehr.

Ergebnis: In Wasser, das 1:12000 Jalapin enthält, stirbt ein Plötz nach 25 Minuten.

Versuch 26.

Ein Plötz von etwa 10 ccm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Wasser werden von der 1 %igen Lösung des Jalapins 20 ccm zugesetzt. Die Konzentration ist also 1:25000.

Um 10^{55} a. m. wird der Fisch hineingesetzt.

Um 11^{20} a. m. liegt er auf der Seite, lebt aber noch. Er wird in frisches Brunnenwasser gesetzt; nach etwa 1 Stunde hat er sich wieder vollkommen erholt.

Ergebnis: In Wasser, das 1:25000 Jalapin enthält, wird ein Plötz nach 25 Minuten völlig gelähmt, erholt sich aber wieder nach dem Herausnehmen.

Versuch 27.

Der vorige Versuch wird wiederholt. Es werden 10 l Brunnenwasser und 40 ccm einer 1 %igen Jalapinlösung benutzt. Die Konzentration ist also wieder 1:25000.

Ergebnis: Der Fisch ist nach etwa $^3/_4$ Stunden völlig gelähmt, erholt sich aber doch wieder nach dem Herausnehmen.

Versuch 28.

Ein Plötz von etwa 15 cm Länge wird in 10 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Brunnenwasser werden von der 1 %igen Lösung des Jalapins 10 ccm zugesetzt. Konzentration 1:100000.

Der Fisch ist nach 24 Stunden noch gesund.

Ergebnis: Jalapin in einer Konzentration von 1:100000 wirkt nicht mehr lähmend auf Fische.

Versuch 29.

Ein Plötz von etwa 12 cm Länge wird in frisches Brunnenwasser gesetzt, dem 10 ccm von der 1 %igen Jalapinlösung zugesetzt werden. Konzentration 1:50000.

Der Fisch ist über Nacht gestorben.

Ergebnis: Ein Plötz stirbt in Wasser, das 1:50000 Jalapin enthält.

Versuch 30.

Ein Plötz von etwa 12 cm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Wasser werden 8 ccm von der 1%igen Jalapinlösung zugesetzt, so daß die Konzentration 1:62500 ist.

Der Fisch bleibt bis zum andern Tage gesund.

Ergebnis: Jalapin wirkt nicht mehr lähmend auf Fische in einer Konzentration von 1:62500.

Versuch 31.

Ein Plötz von ungefähr 12 cm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Wasser werden 10 ccm einer 1%igen Jalapinlösung zugesetzt. Konzentration 1:50100. Er bleibt darin 24 Stunden am Leben.

Ergebnis: Der Fisch ist gesund geblieben bei 1:50100.

Versuch 32.

Ein Plötz von etwa 12 cm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Wasser werden 20 ccm einer 1%igen Jalapinlösung zugesetzt. Konzentration 1:25000. Er bleibt darin 24 Stunden gesund.

Ergebnis: Der Fisch bleibt 24 Stunden gesund auch bei 1:25000.

Während bei dem Versuch 29 Jalapin in einer Konzentration von 50000 noch lähmend auf einen Fisch wirkte, trat bei den beiden zuletzt angeführten Versuchen bei 1:50000, ja 1:25000 keine Wirkung ein.

Diese Verschiedenheit der Ergebnisse hatte wieder lediglich in der Beschaffenheit der Lösung ihren Grund. Ich hatte nämlich die zugesetzte Natronlauge bei Versuch 31 und 32 nicht genau abgemessen.

Im folgenden Versuch verwandte ich eine Jalapinlösung, bei der ich nur so viel Natronlauge zusetzte, wie zur Lösung des Jalapins notwendig war. Hierbei erhielt ich wieder ein positives Ergebnis.

Versuch 33.

Ein Plötz von etwa 15 cm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt und diesem Wasser werden 10 ccm 1%ige Jalapinlösung zugesetzt. Konzentration 1:50000.

Der Fisch stirbt über Nacht.

Gesamtergebnis.

Jalapin wirkt in einer Konzentration von **1:50000** tödlich auf Fische (Plötze). Dies ist wiederum eine sehr bemerkenswerte Analogie zur Wirkung der Saponine, die bekanntlich ebenfalls ganz spezifische Fischgifte sind.

b) Fischversuche mit Convolvulin.

Colvolvulin übte in Lösungen, bei denen die zur Lösung des Convolvulins zugesetzte Natronlauge zu reichlich bemessen worden war, keine Wirkung auf Fische aus, selbst nicht bei 1:5100. Die zu diesen 7 Versuchen benutzten Fische waren ungefähr von gleicher Größe (10 bis 15 cm lang) wie die zu den Jalapinversuchen.

Zu den folgenden Versuchen wird eine Convolvulinlösung verwandt, bei der nur gerade so viel Natronlauge zugesetzt worden ist, wie zur Lösung des Convolvulins notwendig war.

Versuch 34.

Ein Plötz von etwa 15 cm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Wasser werden 10 ccm 1%ige Convolvulinlösung zugesetzt. Konzentration 1:50000.

Der Fisch bleibt darin 5 Stunden lang gesund.

Versuch 35.

Ein Plötz von etwa 15 cm Länge wird in 5 l frisches Brunnenwasser gesetzt, und diesem Wasser werden 20 ccm 1%ige Convolvulinlösung zugesetzt. Konzentration 1:25000.

10^{50} wird der Fisch hineingesetzt.

5^{30}. Der Fisch liegt tot auf der Seite.

Ergebnis: Convolvulin tötet einen Fisch in einer Konzentration von 1:25000 binnen etwa 7 Stunden, während die Konzentration von 1:50000 5 Stunden hindurch scheinbar ohne Einwirkung war.

Gesamtergebnis.

Wie in bezug auf Blut, so wirkt auch auf Fische Jalapin stärker als Convolvulin. Jalapin tötet die Fische noch bei **1:50000**, Convolvulin nur noch bei **1:25000**.

4. Über den Nachweis von Jalapin und Convolvulin.

Im großen und ganzen verhalten sich beide Stoffe wie saure Saponine.

In einem Reagensglase wird zu 1 ccm meiner 1%igen Convolvulinlösung, in einem anderen Reagensglase zu 1 ccm 1%ige Jalapinlösung verdünnte Salzsäure zugesetzt. In beiden Gläsern bildet sich ein weißer Niederschlag. Derselbe ist bei Jalapinlösung stärker.

Dieselbe Reaktion tritt bei Zusatz von verdünnter Schwefelsäure auf.

Bei Zusatz von verdünnter Essigsäure zu 1%iger Convolvulinsäure tritt nur eine schwache Trübung auf, bei Zusatz von verdünnter Essigsäure zu 1%iger Jalapinlösung ist die Trübung deutlicher.

Mineralsäuren scheiden also aus der mit Hilfe von NaOH hergestellten Lösung beider Stoffe diese unlöslich ab. Dies gilt für alle sauren Saponine.

Bei Zusatz von Fehlingscher Lösung zu 1%iger Jalapin- und 1%iger Convolvulinlösung tritt bei kurzem Erhitzen keine Reaktion ein

Präformierter, reduzierender Zucker ist in den beiden Handelspräparaten also nicht vorhanden; auch reduzieren beide Glykoside bei kurzem Erhitzen die Fehlingsche Lösung nicht, werden also nicht sofort unter Zuckerabspaltung zerlegt. Dies gilt für alle sauren Saponine.

1%ige Jalapin- und 1%ige Convolvulinlösung werden mit verdünnter Schwefelsäure auf dem Wasserbade 1 Stunde lang zerkocht. Das Flüssigkeitsgemisch wird abgekühlt und filtriert. Dem Filtrat wird Natronlauge und Fehlingsche Lösung zugesetzt. Nun tritt beim Erhitzen Reduktion in Gestalt eines hellroten Niederschlages ein. Pentosenreaktion mit Bials Reagens trat nicht ein. Es war nur Hexose vorhanden.

Damit ist nachgewiesen, daß beide Substanzen Glykoside sind, die durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren unter Zuckerabspaltung zerlegt werden. Auch dies gilt für alle sauren und nichtsauren Saponine. Die dabei abgespaltenen sonstigen Stoffe, die sogenannten Sapogenine, teilt Kobert in 2 Gruppen. Die sogenannten Anfangssapogenine sind sekundäre Glykoside, enthalten also noch gebundenen Zucker und wirken meist noch hämolytisch, während die nur bei energischem langem Zerkochen sich bildenden Endsapogenine zuckerfrei, also echte Aglykone sind. Sie sind meist schwer löslich und meist wirkungslos. Es war nun festzustellen, ob das Jalapin und Convolvulin je ein solches sekundäres Glykosid bilden.

10 ccm 1%ige Jalapinlösung und 10 ccm 1%ige Convolvulinlösung werden versetzt mit je 5 Tropfen konz. Schwefelsäure. Das Gemisch

wird 1 Stunde lang im Wasserbade gekocht. Es bildet sich ein Niederschlag. Die darüberstehende Flüssigkeit wird abgegossen. Sie erweist sich zuckerreich. Der Rückstand wird alkalisch gemacht und in physiol. Kochsalzlösung zum ursprünglichen Volumen gelöst und neutralisiert. Diese 2 Flüssigkeiten wirkten ebenfalls wie die Muttersubstanzen hämolytisch und nicht wesentlich schwächer.

Man kann also aus Convolvulin und aus Jalapin hämolytisch wirkende Anfangssapogenine herstellen, wie dies bei den Saponinen der Fall ist.

Wiederholung. In 2 Reagensgläsern werden je 10 ccm 1 %ige Jalapinlösung mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt, und das Gemisch wird 1 Stunde lang im Wasserbade gekocht. Es hat sich in den beiden Gläsern ein Niederschlag gebi'det. Die darüber befindliche Flüssigkeit wird abgegossen. Sie wirkt reduzierend. Der Rückstand in beiden Gläsern wird mit physiolog'scher Kochsalzlösung, der einige Tropfen verd. Natronlauge zugesetzt sind, zu 10 ccm gelöst. Die neutrale Lösung wird filtriert, und zu Proben der filtrierten Flüssigkeit werden einige Tropfen Blut gegossen. Bald darauf tritt totale Hämolyse ein. Derselbe Versuch wird mit 1 %iger Convolvulinlösung gemacht. Das Ergebnis ist dasselbe.

Also auch in diesem Falle wirkte der Rückstand in den Gläsern auf Blut wie ein Anfangssapogenin, d. h. hämolytisch.

Nach Zusatz von konzentrierter Salzsäure zu einer Spur Jalapin und Convolvulin tritt weder in der Kälte noch nach Kochen eine Farbenreaktion auf. Auch von den Saponinen kommt nur sehr wenigen diese Reaktion zu.

Je eine Spur Jalapin und Convolvulin wird in konzentrierter Schwefelsäure gelöst. Die Lösung, in ein Schälchen gegossen und stehen gelassen, färbt sich vom Rande her rot. Dies ist bei fast allen Saponinen der Fall.

Im Spektroskop sieht man einen dicken Streifen im Grünen.

Von einer 1 %igen Jalapin- und einer 1 %igen Convolvulinlösung werden je 1 ccm zu 9 ccm Alkohol zugesetzt, so daß in 1 ccm dieser Lösungen 1 mg Substanz ist. Von jeder dieser Lösungen wird 1 ccm in einem Schälchen auf dem Wasserbad zum Verdunsten gebracht und konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. In beiden Schälchen tritt wie vorhin Rotfärbung ein, in dem Schälchen, in dem sich Jalapin befindet, schneller, als in dem anderen. Im Spektroskop sieht man einen dicken Streifen im Grünen.

Von einer 1 %igen Jalapin- und Convolvulinlösung werden je 1 ccm zu 19 ccm Alkohol zugesetzt, so daß in 1 ccm $^1/_2$ mg Substanz ist. Der Versuch wird in derselben Weise fortgesetzt, wie der vorige. Dabei tritt ebenfalls eine Rotfärbung in beiden Schälchen auf. Derselbe Versuch gelingt auch noch mit $^1/_4$ mg, ja sogar mit 0,1 mg.

Die Schwefelsäurereaktion ist also zum Nachweis unserer

beiden Substanzen gut verwendbar; unterscheiden lassen sie sich damit aber nicht.

Eine Spur Jalapin wird mit molybdänsaurem Natrium vermischt und konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Das Gemisch färbt sich sofort dunkelgrün. Dieselbe Reaktion tritt auch bei Convolvulin ein.

Bei Jalapin + vanadinsaurem Ammonium + konzentrierte Schwefelsäure entsteht allmählich eine Grünfärbung. Dasselbe entsteht bei Convolvulin.

Ich versuchte nun, unsere Stoffe nach innerlicher Darreichung im **Kote** nachzuweisen.

Zum Zwecke des Nachweises im Kot wird einem mittelgroßen Huhn Geheseches Convolvulin in Pillenform eingegeben, und zwar erhält dasselbe am 7. I. 14 1 g, am 8. I. 1,5 g und am 9. I. 2 g.

In den folgenden Tagen wird mit der Fütterung des Huhnes mit Convolvulin ausgesetzt, da das Huhn Durchfall bekommen hat.

Weiter erhält das Huhn am 13. I. und am 14. I. wieder je 1 g. Dann wird wegen Durchfalls wieder ausgesetzt; es erhält dann am 19. I. und 20. I. je 1 g. Der Kot wird gesammelt; er wird entfettet und zerrieben.

21. I. Von dem entfetteten Kot wird eine kleine Menge in einem Reagensglase mit Alkohol versetzt und erhitzt. Die heiße Flüssigkeit wird durch ein Filter gegossen. Das Filtrat wird in 2 Schälchen zum Verdunsten gebracht.

Zu dem einen Schälchen wird konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Es tritt eine Rotfärbung ein. Im Spektroskop sieht man einen breiten Streifen im Grünen.

Der Rückstand des andern Schälchens wird mit Kochsalzlösung, dem 1 Tropfen Natronlauge zugesetzt ist, gelöst. Der neutralen Flüssigkeit werden ein paar Tropfen Kaninchenblutkörperchen zugesetzt.

Es tritt totale Hämolyse ein.

Ergebnis: Auf chemischem und auf biologischem Wege ist also der Nachweis entweder von unzersetztem oder bis zu Anfangssapogenin abgebautem Convolvulin im Kot für das Huhn erbracht. Es fragte sich jetzt weiter, ob die Ausscheidung noch einige Tage anhalten wird.

24. I. Der letzte Kot wird nach dem Entfetten mit Aqua destillata, dem einige Tropfen Natronlauge zugesetzt sind, gekocht und filtriert. Dem Filtrat wird verdünnte Salzsäure zugesetzt. Es bildet sich ein Niederschlag. Dieser wird auf ein Filter gebracht und darüber wird Aqua dest., dem einige Tropfen Natronlauge zugesetzt sind, gegossen. Die filtrierte Flüssigkeit wird neutralisiert und in 2 Schälchen zum Verdunsten gebracht. Dem einen Schälchen wird konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Es tritt eine Rotfärbung ein. Im Spektroskop ist ein breiter verwaschener Streifen im Grünen zu erkennen. Der Rückstand im anderen Schälchen wird mit physiologischer Kochsalzlösung, dem

1 Tropfen Natronlauge zugesetzt ist, gelöst, und der neutralen Flüssigkeit werden ein paar Tropfen Kaninchenblutkörperchen zugesetzt. Es tritt totale Hämolyse ein.

Beide Versuche habe ich wiederholt und bin dabei wieder zu demselben Ergebnis gekommen. Stets ließ sich im Kot chemisch und biologisch Convolvulin oder sein Anfangssapogenin nachweisen. Diese Ausscheidung überdauert die Darreichung um mehrere Tage. Von einer quantitativen Resorption des Convolvulins aus dem Magendarmkanal kann also gar keine Rede sein. Zum Zweck der Anwendung als Abführmittel ist es ja auch wünschenswert, daß möglichst wenig resorbiert wird. Der Darm wandelt unsere beiden Abführmittel offenbar analog den Saponinen in Anfangssapogenine um, die fast nicht resorbiert werden. Das ist aber bei guten Abführmitteln gerade das Wünschenswerte. Die Nachweisbarkeit im Kot in Form eines Sapogenins gilt für alle bis jetzt nach dieser Richtung hin untersuchten Saponine. Also auch in dieser Hinsicht hat sich das Convolvulin als den Saponinen analog verhaltend erwiesen.

Während es mir also gelungen war, die Substanz im Kot wiederholt sicher nachzuweisen, war das Resultat in bezug auf den **Harn** völlig negativ, während wenigstens für einige Saponine sich der Übergang in den Harn sogar bei innerlicher Darreichung hat erweisen lassen.

8. I. Einem Kaninchen von mittlerer Größe werden 5 ccm einer 2%igen Jalapinlösung unter die Haut des Rückens gespritzt.

9. I. Der Harn von dem Kaninchen, dem am Tage vorher 5 ccm einer 2%igen Jalapinlösung subcutan eingespritzt worden sind, ist aufgefangen worden. Er enthält keinen Zucker und kein Eiweiß.

Nach Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure wird der Harn klar durch Lösung von Phosphaten und Uraten. Bei reichlichem Zusatz von verdünnter Salzsäure bleibt der Harn klar, ein Umstand, der gegen das Vorhandensein von sauren Saponinen bzw. Sapogeninen spricht.

Der Harn ist nach 24stündigem Stehen klar geblieben, es hat sich kein Niederschlag gebildet.

9. I. Dem Kaninchen werden wieder 5 ccm der 2%igen Jalapinlösung unter die Haut des Rückens gespritzt.

10. I. Zu dem Harn von dem Kaninchen, dem am 8. und 9. I. je 5 ccm einer 1 $^0/_0$igen Jalapinlösung unter die Haut des Rückens gespritzt worden sind, werden einige Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt. Der Harn wird zuerst klar infolge der Lösung der in ihm vorhandenen Phosphate und Urate, er trübt sich aber wieder nach weiterem Zusatz von verdünnter Salzsäure. Er wird stehen gelassen, um zu sehen, ob sich ein Niederschlag bildet.

Am nächsten Tage hat sich am Boden ein dunkler Niederschlag abgesetzt; dieser enthält jedoch weder unser Glykosid noch ein Sapogenin.

10. I. Dem Kaninchen werden wieder 5 ccm der 2 $^0/_0$igen Jalapinlösung unter die Haut des Rückens gespritzt.

12. I. Der Harn von 2 × 24 Stunden wird mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, dann wird er filtriert.

Von dem filtrierten Harn werden in einem Reagensglase einer Probe einige Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt; es tritt eine leichte Trübung ein. Nach 24 Stunden hat sich in diesem Glase nur ein ganz geringer Niederschlag gebildet. In einem anderen Glase werden einer Probe einige Tropfen verdünnter Salzsäure zugesetzt und der Harn 1 Stunde lang in einem Wasserbade gekocht. Nach 24 stündigem Stehen hat sich in diesem Reagensglase ein Niederschlag gebildet. Die Flüssigkeit darüber wird abgegossen und der Niederschlag auf ein Filter gebracht. Darüber wird physiologische Kochsalzlösung, der 2 Tropfen Natriumcarbonat zugesetzt sind, gegossen, bis die filtrierte Flüssigkeit neutral ist. Zu der filtrierten Flüssigkeit werden einige Tropfen Menschenblut zugesetzt.

Es tritt keine Hämolyse ein.

Dem Kaninchen werden weiter täglich 5 ccm der 2 $^0/_0$igen Jalapinlösung unter die Haut des Rückens gespritzt bis zum 20. I. Das Kaninchen ist gesund geblieben. Der Harn wird zunächst stets auf Zucker und Eiweiß untersucht mit negativem Ergebnis.

Im übrigen wird der Harn in derselben Weise, wie schon beschrieben, behandelt. Er wird zunächst mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, dann filtriert. Der filtrierte Harn mit ungefähr 10 ccm Salzsäure versetzt und 1 Stunde lang in einem Wasserbade gekocht. Der Niederschlag, der sich nach 24 Stunden gebildet hat, wird auf ein Filter gebracht und darüber wird physiologische Kochsalzlösung gegossen, der einige Tropfen Natriumcarbonat zugesetzt sind, bis die filtrierte Flüssigkeit neutral ist. Zu dem Filtrat werden einige Tropfen Blut zugesetzt. Es tritt nie Hämolyse ein.

Im Harn ist also kein Jalapin und kein Sapogenin desselben. Sehr giftig scheint das Jalapin bei subcutaner Einspritzung nicht zu sein.

24. I. Einem anderen Kaninchen von mittlerer Größe werden 2 ccm der 2 $^0/_0$igen Jalapinlösung in eine Ohrvene injiziert. Der Harn, den das Kaninchen läßt, beträgt nur einige Kubikzentimeter. Er ist dickflüssig und enthält reichlich Eiweiß (Esbach, Ferrocyankalium, Kochprobe).

Das Jalapinharz bzw. seine Umwandlungsprodukte sind auch in diesem Harn nicht nachzuweisen.

Das Kaninchen sitzt einige Tage krank in seinem Käfig, es frißt sehr wenig. Allmählich erholt es sich aber wieder.

Die Dosis, die dem Kaninchen diesmal in die Vene injiziert wurde, war also wohl gefährlich, wirkte aber nicht letal.

Zusammenfassung.

1. Convolvulin und Jalapin haben mit den Saponinen und dem Agaricin gemeinsam, daß alle diese Stoffe hämolytisch wirken, falls man sie im Reagensglas, neutral gelöst, mit Blut in Berührung bringt. Diese neutralen Lösungen schäumen beim Schütteln. Bei subcutaner und selbst bei intravenöser Einspritzung tritt jedoch kein Blut im Harn auf; aber es fehlt auch jede Abführwirkung, da diese den direkten Kontakt der Saponine mit der Darmschleimhaut erfordert.

2. Jalapin und Convolvulin sind spezifische Fischgifte. Auch dies zeigt, daß beide Stoffe zur Saponingruppe gehören.

3. Convolvulin und Jalapin sind gegen überschüssiges freies Alkali ungemein empfindlich. Die hämolytische Wirkung geht dabei zum Teil oder fast ganz verloren. Die Abführwirkung dürfte sich analog verhalten. Man hat daher in der hämolytischen Prüfung wahrscheinlich einen bequemen Wertmesser z. B. für käufliche Jalapinpillen.

4. Gegenüber verdünnten Mineralsäuren sind Convolvulin und Jalapin insofern wenig empfindlich, als trotz der eintretenden Hydrolyse die Abführwirkung bestehen bleibt. Auch dies steht in Analogie zu dem Verhalten der Saponine. Die sich dabei bildenden Stoffe sind als Anfangssapogenine des Convolvulins und Jalapins zu bezeichnen.

5. Eine weitere Analogie zu vielen Saponinen zeigen unsere beiden Stoffe insofern, als sie nach innerlicher Eingabe gar nicht oder wenigstens nicht quantitativ resorbiert, sondern im Kot in Form solcher noch wirksamen Anfangssapogenine zur Ausscheidung gelangen.

Diese Arbeit bildet die Fortsetzung und Ergänzung einer Dissertation von Adam Scheuber „Über die Wirkung einiger Convolvulaceenharze“, die unter Kobert im Jahre 1894 in Dorpat erschienen ist.

Über Fermentbildung.

7. Mitteilung.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 18. Februar 1918.)

In der 6. Mitteilung über Fermentbildung war ich auf Grund von Untersuchungen bei B. coli zu dem Ergebnis gelangt, daß die Bakterien für die Bildung der einzelnen Fermente nicht die gleichen Aminosäuren verwenden. Es ergab sich, daß das Leucin, das zur Bildung der Urease beiträgt, für die Bildung des Gärungsfermentes ohne Bedeutung ist. Ich habe dann in einem besonderen Abschnitte der Mitteilung ausgeführt, daß schon aus den bisherigen Ergebnissen sich über das Problem der Fermentbildung hinaus wichtige Gesichtspunkte ergeben. Wir gewinnen ein Verständnis dafür, daß das Eiweiß nicht aus Ketten von gleichartigen Aminosäuren aufgebaut ist, sondern aus Reihen qualitativ unterschiedener Aminosäuren sich zusammensetzt.

Da jedoch das B. coli und das Gärungsferment nicht sehr geeignet ist, in die Frage tiefer einzudringen, suchte ich nach Verhältnissen, in denen sich besser bei einer Bakterienart zwei verschiedene Fermente nebeneinander untersuchen lassen. Nach einigen Überlegungen und Tastversuchen zeigte sich, daß die Sachlage eine denkbar einfache ist. Ich fand nämlich, daß meine Proteuskulturen, deren Ureasebildung ich schon genau kenne, eine hochwirksame Katalase bilden. Mit diesem Ferment, das einer quantitativen Bearbeitung ebenso bequem wie exakt zugänglich ist, war es mir nun möglich, einen erheblichen

Schritt auf dem Wege des Problems der Fermentbildung weiterzukommen.

Zwei prinzipielle Punkte konnten geprüft werden. Zunächst konnte für die Katalase die Analyse des Nährbodens durchgeführt werden, d. h. es konnte die Mindestzusammensetzung festgestellt werden, die für die Bildung der Katalase notwendig ist. Das gelang vollkommen. Für die Katalase ist das Leucin nicht notwendig. Die Asparaginsäure ist als einzige Aminosäure durchaus ausreichend.

Gleichzeitig ließ sich auch ermitteln, inwieweit die Anwesenheit anderer Substanzen neben Aminosäuren für die Katalasebildung förderlich oder notwendig ist.

Endlich gestattete die relativ große Widerstandsfähigkeit und starke Wirksamkeit der Bakterienkatalase, einen Punkt glatt zu erledigen, der bei der empfindlichen Bakterienurease Schwierigkeiten bereitet hatte. Es war nämlich möglich, Katalase, deren Bildung ausschließlich unter Benutzung chemisch bekannter Substanzen zustande gekommen war, in voller Wirksamkeit nach Abtötung der Bakterien zu erhalten. So können wir also jetzt aus bekannten Bausteinen ein Ferment aufbauen, das unabhängig von den lebenden Organismen, die es gebildet haben, nach deren Tode existenzfähig und voll wirksam ist.

Methodische Schwierigkeiten waren nicht zu überwinden. Die Wirksamkeit der Katalase wurde gemessen, indem die Menge des verbrauchten Wasserstoffsuperoxyds bestimmt wurde. Die Messung erfolgte mittels Titration mit $^{n}/_{10}$-Kaliumpermanganat nach Zufügung von Schwefelsäure. Die Versuchsanordnung entsprach im allgemeinen folgendem einfachen Schema:

Die Gemische kommen in breithalsige Flaschen mit eingeschliffenem Stöpsel von 100 ccm Inhalt. Zuerst kommen in jedes Glas 10 ccm Wasser, dann 0,5 ccm der zu untersuchenden Kultur, zum Schluß 2 ccm Wasserstoffsuperoxyd (1,5 $^0/_0$ig). Benutzt wird Hydrogenium peroxydatum medicinale purum 50 vol.-$^0/_0$ig = 15 Gew.-$^0/_0$ H_2O_2 (Merck), von dem für jeden Versuch eine frische Lösung durch Verdünnung auf das 10fache hergestellt wird. Als Kontrollen werden gemischt:

10 ccm Wasser, 0,5 ccm der Nährflüssigkeit, auf der in dem Falle des betreffenden Versuches die Bakterien gezüchtet waren, und Wasserstoffsuperoxyd wie im Hauptversuch. Die Differenz zwischen den Kontrollen und den Hauptversuchen ergibt dann ein Maß des durch die Bakterien zersetzten H_2O_2.

Besondere Versuche hatten ergeben, daß der Verbrauch von Permanganat durch die Nährflüssigkeit ein minimaler ist, der gegenüber den Werten, die in Frage kommen, keine Bedeutung hat. Dabei machte es keinen meßbaren Unterschied, ob die Kontrollen mit den unbewachsenen Nährlösungen angesetzt wurden oder mit Kulturen, die durch Erhitzen abgetötet waren.

Da die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds durch das Bakterienferment sehr schnell vor sich geht, konnten wir ganz kurze Versuche ausführen. Die Brutschrankzeit wurde auf $^1/_2$ Stunde beschränkt; die Zeit genügte, um den Vorgang bei guter Wirkung fast vollständig zum Abschluß zu bringen. Es sei bemerkt, daß infolge dieser günstigen Bedingungen die Anordnung sich auch zu größeren physikalisch-chemischen Reihenversuchen eignen würde.

Am übersichtlichsten sind die Resultate, wenn man die Menge des zersetzten Wasserstoffsuperoxyds in Prozenten des zugesetzten ausdrückt. Da wir immer mit Kontrollen arbeiteten, so ist die Berechnung sehr einfach.

Zunächst überzeugten wir uns, daß Bouillonkulturen des Proteus sehr energisch H_2O_2 zersetzen und daß die Bouillon schon wenige Stunden nach der Impfung diese Eigenschaft gewinnt. Sofort prüften wir dann, wie der Nährboden für die Proteusbakterien zusammengesetzt sein muß, damit die Bakterien nicht nur wachsen, sondern auch kräftig Katalase bilden.

Alle Nährlösungen hatten dieselbe Salzzusammensetzung. Immer kamen auf 100 ccm Wasser:

Chlornatrium	0,6 g
Chlorcalcium	0,01 g
Magnesiumsulfat	0,04 g
Dikaliumphosphat . . .	0,25 g

Tabelle.

Auf 100 g Nährlösung kommen organische Substanzen	Vom zugefügten H_2O_2 waren zersetzt %
0,4 g asparaginsaures Na 0,6 g Ammoniumlactat 2 ccm Glycerin	63,5 74,0 89,1 90,4
0,4 g asparaginsaures Na 0,6 g Ammoniumlactat	58,6 68,1 96,1 98,0

Besonders instruktiv ist die nächste Tabelle. Wiederum geben die Zahlen den zersetzten Wasserstoffsuperoxyd in Prozenten des zugefügten an. Wir vergleichen jetzt die Katalasewirkung bei Nährlösungen, die nur Aminosäuren enthalten, mit solchen, denen außerdem 0,7 g milchsaures Na auf 100 ccm Nährlösung zugefügt war. Wie schon früher erwähnt wurde, verwandten wir für den einzelnen Versuch stets 0,5 ccm Kultur.

Tabelle.

Auf 100 ccm Nährlösung kommen Aminosäuren	Ohne milchsaures Na	Mit milchsaurem Na
0,4 g asparaginsaures Na	18,0 18,0	96,5 97,4 97,8
0,4 g Alanin	8,1 8,9 36,9	92,3 97,3
0,4 g Leucin	8,7 34,9 39,4 43,8	32,6 85,6

Das Studium der beiden Tabellen ermöglicht sehr lehrreiche Schlüsse, die sich am übersichtlichsten in einzelnen Punkten wiedergeben lassen:

1. Glycerin ist, wenn Milchsäure vorhanden ist, überflüssig zur Katalasebildung.

2. Ammonsalze sind überflüssig.

3. Eine zweibasische Säure ist überflüssig.

4. Die verschiedenen untersuchten Aminosäuren sind geeignet. Doch kommt es erst zu einer kräftigen Katalase-

bildung, wenn gleichzeitig Milchsäure in der Nährflüssigkeit vorhanden ist.

Nunmehr werde ich zeigen, daß die Katalase sich leicht in ihrer Wirksamkeit auch nach Abtötung der Bakterien demonstrieren läßt. Alle diese Versuche mit abgetöteten Kulturen machte ich mit Bakterien, die bereits in zweiter Generation auf einem Nährboden gewachsen waren, der auf 100 ccm Nährlösung 0,4 g asparaginsaures Na und 0,6 g milchsaures Na enthält.

Die Anordnung war folgende:

In jede Probe kommen zunächst 10 ccm Wasser und 0,5 ccm Toluol. In je zwei Proben 0,5 ccm Kultur, in zwei andere 0,5 ccm Nährflüssigkeit. Nach 5 Minuten werden zu allen Proben 2 ccm H_2O_2 (1,5 $^0/_0$ig) zugefügt. Alle Gläser kommen für $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank.

Bei den beiden Hauptproben werden bei der Titration mit $^n/_{10}$-Kaliumpermanganat 0,1 und 0,3 ccm verbraucht, bei den Kontrollen 19,2 und 19,3 ccm.

Das bedeutet eine Zerstörung von 98,9 $^0/_0$ des zugesetzten Wasserstoffsuperoxyds.

Entsprechende Resultate wurden mehrfach erhalten. Es erübrigt sich aber, mehr Zahlen anzugeben, da wir diese Anordnung als Grundlage für weitere Versuche gewählt haben, wobei diese Resultate immer wieder bestätigt wurden.

Ich wollte nämlich prüfen, ob diese Bakterienkatalase sich ähnlich, wie ich das allein und zusammen mit Hata früher für die verschiedensten Fermente gefunden hatte, durch Sublimat inaktivieren und dann wieder durch Cyankalium reaktivieren läßt. Das war mir früher mit Bakterienfermenten noch nicht gelungen, weil die Bakterienurease, mit der ich damals arbeitete, zu empfindlich war. Mit der widerstandsfähigeren Bakterienkatalase gelangen die Versuche sehr leicht.

Zunächst stellte ich die Empfindlichkeit der Katalase für Sublimat fest. Wie schon erwähnt, wurden die Versuche in der eben geschilderten Anordnung ausgeführt. Die Katalase traf dabei mit Sublimat in einer Wassermenge von 11,5 ccm und 0,5 ccm Toluol zusammen, wozu schließlich noch 2 ccm des $1^1/_2$ $^0/_0$igen Wasserstoffsuperoxyds kamen.

Es wurde H_2O_2 gespalten:

99 % bei Gegenwart von 0,1 mg Sublimat
65,3 % " " " 1 " "
2,5 % " " " 10 " "

Für die weiteren Versuche mußte auch die Empfindlichkeit der Katalase gegen Cyankalium festgestellt werden, die ja auch aus allgemein-toxikologischen Gesichtspunkten interessant ist.

Es wurde H_2O_2 gespalten:

96,7 % bei Gegenwart von 0,1 mg Cyankalium
60,9 % " " " 1 " "
27,8 % " " " 10 " "

Die Reaktivierungsversuche wurden nach folgendem Schema angeordnet:

A. In alle Gläser kommen 10 ccm Wasser, 0,5 ccm Toluol, dann in

1. u. 2.	3. u. 4.
2 ccm Sublimat (2 mg)	2 ccm Sublimat (2 mg)
5. u. 6.	7. u. 8.
2 ccm Wasser	2 ccm Sublimat (2 mg)

In 1. bis 6. 0,5 ccm Kultur, in 7. u. 8. 0,5 ccm Nährlösung.

Nach 15 Minuten:

1. u. 2.	3. u. 4.
1 ccm Cyankalium (1 mg)	1 ccm Wasser
5. u. 6.	7. u. 8.
1 ccm Cyankalium (1 mg)	1 ccm Cyankalium (1 mg)

Nach $^1/_2$ Stunde Brutschrankaufenthalt wird überall der noch vorhandene Wasserstoffsuperoxyd bestimmt:

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1,6	0,5	20,0	19,5	2,4	2,0	20,4	20,1

Es ist danach zerstört im Durchschnitt von

1. u. 2. 94,6 %
3. u. 4. 2,5 %
5. u. 6. 89,2 %

B. Dasselbe Schema. Nur wurde das Cyankalium resp. das Wasser erst nach 1 Stunde anstatt nach 15 Minuten zugefügt.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
4,9	5,0	19,9	19,6	5,0	5,2	19,4	19,6

Es ist danach zerstört im Durchschnitt von

1. u. 2. 74,4 %
3. u. 4. 0 %
5. u. 6. 73,8 %

Die Reaktivierung der durch Sublimat inaktivierten Katalase gelingt mit der Zeit immer schlechter, wie die folgende Tabelle zeigt:

Reaktivierung nach	Zerstörung von H_2O_2 durch reaktivierte Katalase %	Zerstörung von H_2O_2 durch inaktivierte Katalase %
15 Minuten . .	94,6	2,5
1 Stunde . .	74,4	0
2 Stunden . .	22,8	0,5
4 „ . .	13,9	0
$22^1/_2$ „ . .	0	2,1

Im gleichen Sinne sprechen auch die folgenden Zahlen, die aus einem einheitlich angesetzten Versuche stammen:

Reaktivierung nach	Zerstörung von H_2O_2 durch reaktivierte Katalase %	Zerstörung von H_2O_2 durch inaktivierte Katalase %
1 Stunde . .	74,4	4,9
2 Stunden . .	37,1	0
$23^1/_2$ „ . .	0	0

Dieser Versuch lehrt also, was auch aus den Zahlen der vorigen Versuche schon zu entnehmen war, daß die Inaktivierung der Bakterienkatalase mit der Zeit irreversibel wird.

Toluol ist auch bei längerer Einwirkung unschädlich, wie z. B. der folgende Versuch zeigt.

Zu 10 ccm Wasser, 0,5 ccm Toluol und 0,5 ccm Kultur werden 2 ccm H_2O_2 hinzugefügt nach

1.u.2. 15 Minuten. Es wird Permanganat verbraucht: 0,2 u. 0,3 ccm
3.u.4. 1 Stunde. „ „ „ „ 0,2 „ 0,3 „
5.u.6. 2 Stunden. „ „ „ „ 0,2 „ 0,3 „
7.u.8. $22^3/_4$ „ „ „ „ „ 0,2 „ 0,3 „

Beim Cyankalium hat die Dauer der Einwirkung keinen Einfluß auf die Beeinträchtigung der Katalasewirkung:

Es werden gemischt: 10 ccm Wasser, 0,5 ccm Toluol, 0,5 ccm Kultur und 1 ccm (1 mg) Cyankalium. 2 ccm H_2O_2 werden zugefügt nach

1. 15 Minuten. Die Titration ergibt 10,2 ccm
2. 1 Stunde. „ „ „ 9,7 „
3. 2 Stunden. „ „ „ 10,0 „
4. $23^1/_2$ „ „ „ „ 10,7 „

Die Beeinträchtigung ist danach überall etwa die gleiche, sie beträgt etwa 50%.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend ergibt sich also aus den Versuchen dieser Mitteilung folgendes:

Die Proteus-Bakterien bilden neben der Urease, deren Bildung die Anwesenheit von Leucin verlangt, eine sehr kräftige Katalase. Die Bildung dieser Katalase läßt sich wie die der Urease vollkommen in Nährlösungen von bekannter und sehr einfacher Zusammensetzung erzielen. Leucin ist hier nicht notwendig. Verschiedene Aminosäuren erweisen sich als brauchbar. Milchsäure ist außerordentlich förderlich für die Katalasebildung. Die spurweise notwendige Bakteriensubstanz unbekannter Zusammensetzung, unter deren Einwirkung die Fermentbildung stattfindet, spielt in unseren Versuchen nur noch die Rolle eines Katalysators, der bei einer chemischen Umsetzung den Prozeß in Gang bringt. Die Kenntnis der Konstitution dieses Katalysators ist wünschenswert, aber nicht dringend. Denn auch bei den chemischen Umsetzungen des Laboratoriums trägt die chemische Kenntnis des Katalysators nicht unbedingt zu dem Verständnis der Umsetzungen bei.

Als weiteren Fortschritt stellen wir fest, daß wir jetzt ein aus bekannten Substanzen hergestelltes Bakterienferment ohne die geringsten Schwierigkeiten von der lebenden Zelle trennen können. Die Katalase ist in dieser Beziehung ein ideales Ferment. Das Studium ihrer Inaktivierbarkeit und Reaktivierbarkeit zeigt, daß sie der Untersuchung ebenso wie die tierischen und pflanzlichen Fermente zugänglich ist. Wir haben gesehen, daß man durch die Anwendung der Reaktivierbarkeit als Indicator sich auch darüber orientieren kann, daß die Verbindung des Fermentes mit Sublimat allmählich fester und irreversibel wird. So betreten wir, nachdem nunmehr die Bahn frei ist, ein Forschungsgebiet, das uns immer neue Einblicke in die feineren Reaktionen der Fermentmoleküle gestattet.

Beiträge zur Kenntnis der Milch schilddrüsenloser Ziegen.

Von

W. Grimmer.

(Aus der Versuchsmolkerei des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 18. Februar 1918.)

Auf Grund der bisher bekannt gewordenen klinischen und experimentellen Daten ist die Basedowsche Krankheit als Hyperthyreoidismus oder eine Folge desselben aufzufassen, als eine Krankheit, die durch Überschwemmung des Organismus mit Sekretionsprodukten einer hypertrophierten oder in erhöhter Tätigkeit befindlichen Schilddrüse bedingt wird. Unter der Voraussetzung, daß die Schilddrüse bzw. ihr Sekret dazu bestimmt ist, gewisse toxische Produkte des tierischen Organismus zu entgiften, entwickelte eine Anzahl von Autoren, z. B. Ballet und Enriquez[1]), Lanz[2]), Möbius[3]), eine Serotherapie des Morbus Basedowii, die darin besteht, daß erkrankten Personen jene Toxine, welche die Schilddrüse zu entgiften vermag, mittels des Blutserums thyreopriver Tiere zugeführt werden. Dadurch, daß das Plus an Sekret des Basedowkranken durch diese Toxine gebunden wird, wird es von dem Organismus abgelenkt, und es werden die durch die Hypersekretion bedingten Krankheitserscheinungen zum Verschwinden gebracht. Unter der Annahme, daß die im Blute kreisenden Toxine schilddrüsenloser Tiere auch in die Milch übertreten, behandelten Lanz[2]), Burghart und Blumenthal[4]) u. a. die Basedowsche Krankheit mit der

[1]) Ballet und Enriquez, Semaine médicale **1895**, 330.

[2]) Lanz, Korrespondenzblatt f. Schweizer Ärzte **1899**, Nr. 23; Münch. med. Wochenschr. **1903**, 146.

[3]) Möbius, ebenda S. 149.

[4]) Burghart und Blumenthal, Therapie der Gegenwart **1903**, 337.

Milch von ihrer Schilddrüse beraubten Ziegen und erzielten damit auch die von ihnen erwarteten guten Erfolge.

Diese Medikation dürfte einige Verbreitung gefunden haben, wenigstens wurden der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden im Laufe der Jahre des öfteren Ziegen zur Operation der Schilddrüse zugeführt und die Milch der operierten Tiere von derartigen Patienten genossen.

Über die Veränderungen der Milch operierter Tiere ist, soweit ich die Literatur überblicken kann, bisher nichts bekannt geworden. Sie waren nach meinen früheren orientierenden Beobachtungen sehr sinnfällig. Die Milchmenge nahm nach der Operation sehr rasch ab, mehr oder weniger lange Zeit nach derselben nahm die Milch eine abnorme Beschaffenheit an, sie erhielt sehr oft zunächst eine gelbliche, später bisweilen sogar graugrüne Färbung, wurde ziemlich zähflüssig und zeigte gegenüber normaler Ziegenmilch weitgehende Veränderungen hinsichtlich ihrer Zusammensetzung. Diese Erscheinungen deuten auf engere innersekretorische Beziehungen zwischen Milchdrüse und Schilddrüse, um so mehr, als diese Veränderungen bereits zu einer Zeit eintraten, als die bekannten Ausfallserscheinungen an den operierten Tieren noch nicht beobachtet werden konnten. Es erschien mir in hohem Maße wünschenswert, diese Veränderungen eingehender zu verfolgen, da die Kenntnis derselben möglicherweise einen weiteren Baustein zu dem Gebäude der Lehre von der inneren Sekretion einerseits, von der Milchbildung andererseits bildet.

Die vorliegenden Untersuchungen sind bei weitem nicht erschöpfend, die Zahl der sich aufwerfenden Fragen ist eine zu große, als daß ihre Beantwortung durch eine erstmalige Untersuchung möglich wäre. Wissen wir doch, welche ungeheuren Veränderungen die Exstirpation eines innersekretorischen Organs auf den operierten Organismus auszuüben vermag, und bedenken wir, in wie hohem Maße die Milchdrüse auf Veränderungen im Gesamtorganismus reagiert. Dann aber haben wir noch mit besonderen Verhältnissen zu rechnen, die vorauszusehen unmöglich ist und die oft erst nach langer Zeit als solche erkannt werden können. In bezug auf die Schilddrüse erinnere ich z. B. an das zeitweilige Auftreten accessorischer Schilddrüsen, welche die bekannten Ausfallserscheinungen stark zu reduzieren

vermögen, deren Vorhandensein man aber nicht vorausahnen kann. Es bedarf daher zahlreicher Untersuchungen an einer größeren Zahl von Tieren, bevor man ein abschließendes Urteil fällen kann. Die vorliegenden Untersuchungen sind somit nur als der Anfang einer größeren Reihe von Versuchen zu betrachten, deren Fortführung beabsichtigt ist und, soweit es die jetzigen Verhältnisse gestatten, z. T. auch schon erfolgte.

Den Untersuchungen diente eine Ziege, die zum ersten Male gedeckt worden war. Sie wurde Mitte März 1917, etwa 10 Tage vor dem Lammen eingestallt. Am 25. III., 2 Tage vor dem erwarteten Termin, warf sie 2 Junge, von denen das eine einige Stunden, das andere innerhalb weniger Tage nach der Geburt einging. Das Tier hatte offenbar auf dem Eisenbahntransport gelitten, erholte sich aber sehr bald wieder. Die Milch des Tieres wurde erstmalig am 18. April, und von da fortlaufend bis zum Versiegen der Lactation am 7. I. 18 untersucht. Die Untersuchung erstreckte sich auf die tägliche Wägung der Milchmenge, sowie die Bestimmung des spez. Gewichts und des Fettgehaltes, 3 mal wöchentlich — vorübergehend infolge besonderer Verhältnisse auch nur 2 mal oder 1 mal wöchentlich — wurde die Milch einer Gesamtanalyse unterworfen. Am 4. VIII. wurde die Schilddrüsenoperation ausgeführt, die das Tier gut überstand[1]).

Hierdurch wurde die Lactationsperiode in zwei annähernd gleich große Zeitabschnitte zerlegt, deren erster die Zusammensetzung der Milch unter normalen Verhältnissen ergibt, deren zweiter die Folgen der Operation wiederspiegelt. In Tabelle I sind die Wochendurchschnittswerte der Milch in Menge und allgemeiner Zusammensetzung wiedergegeben. Die Wahl dieser Zeitabschnitte ermöglicht ein klares Bild von der mittleren Zusammensetzung der Milch, das kaum gewonnen werden könnte, wenn die täglich ermittelten Werte wiedergegeben worden wären. Zu bemerken ist hierzu, daß die Milchmenge, das spezifische Gewicht, der Fettgehalt und die nach der Fleischmannschen Formel berechnete Trockensubstanz die Mittelwerte der täglichen Untersuchungen vorstellen, während

[1]) Herrn Professor Müller, Leiter der Veterinärklinik des Landw. Instituts der Universität, sei für die Vornahme derselben auch an dieser Stelle herzlichst gedankt.

Tabelle I.

Milch in der Woche vom	Tägl. durchschnittliche Milchmenge g	Spez. Gewicht bei 15°	Fettgehalt %	Trockensubstanz berechnet	Trockensubstanz bestimmt	Gesamtstickstoffsubstanz (N x 6,37) %	Milchzucker	Asche
15. 4.—21. 4.	865	1,0340	4,058	13,633	—	—	—	—
22. 4.—28. 4.	931	1,0334	3,687	13,037	11,899	2,794	4,835	0,611
29. 4.— 5. 5.	953	1,0328	3,560	12,736	12,560	2,851	5,013	0,641
6. 5.—12. 5.	950	1,0326	3,561	12,687	12,345	2,887	4,589	0,624
13. 5.—19. 5.	893	1,0327	3,655	12,825	12,302	3,038	4,805	0,688
20. 5.—26. 5.	905	1,0325	3,590	12,697	12,146	3,094	4,486	0,690
27. 5.— 2. 6.	918	1,0320	3,791	12,813	12,301	3,036	4,485	0,681
3. 6.— 9. 6.	935	1,0318	3,200	12,053	11,585	2,959	4,280	0,683
10. 6.—16. 6.	883	1,0316	3,100	11,883	11,386	2,976	4,277	0,700
17. 6.—23. 6.	832	1,0311	3,059	11,709	11,347	2,903	4,082	0,704
24. 6.—30. 6.	890	1,0303	3,530	12,073	11,719	2,943	4,089	0,708
1. 7.— 7. 7.	920	1,0304	3,386	11,926	11,686	2,905	4,086	0,697
8. 7.—14. 7.	917	1,0303	3,643	12,209	11,957	2,930	4,273	0,708
15. 7.—21. 7.	903	1,0303	3,569	12,120	11,763	2,849	4,235	0,710
22. 7.—28. 7.	870	1,0304	3,491	12,052	11,655	2,889	4,147	0,721
29. 7.— 4. 8.	855	1,0304	3,643	12,235	11,962	2,964	4,027	0,731
Am 4. 8., 5½ Uhr nachm. operiert								
5. 8.—11. 8.	377	1,0303	3,326	11,849	11,626	3,163	4,003	0,799
12. 8.—18. 8.	541	1,0289	3,167	11,285	10,853	2,819	3,896	0,723
19. 8.—25. 8.	459	1,0287	3,177	11,247	10,883	2,594	4,019	0,790
26. 8.— 1. 9.	423	1,0292	3,384	11,622	11,422	2,805	4,082	0,780
2. 9.— 8. 9.	341	1,0292	3,819	12,144	11,661	2,664	4,059	0,808
9. 9.—15. 9.	301	1,0297	3,826	12,278	12,036	2,840	3,928	0,832
16. 9.—22. 9.	294	1,0297	3,879	12,342	11,981	2,947	3,787	0,842
23. 9.—29. 9.	205	1,0296	4,884	13,523	13,225	3,071	3,719	0,845
30. 9.— 6. 10.	150	1,0310	5,400	14,493	13,331	3,368	3,721	0,887
7. 10.—13. 10.	143	1,0317	5,447	14,724	14,178	3,904	3,953	0,917
14. 10.—20. 10.	166	1,0314	4,630	13,336	12,138	3,679	3,451	0,860
21. 10.—27. 10.	205	1,0329	4,210	13,541	12,869	3,907	4,056	0,866
28. 10.— 3. 11.	205	1,0326	4,661	14,007	13,891	3,849	4,033	0,898
4. 11.—10. 11.	210	1,0329	4,357	13,717	13,013	3,816	4,164	0,842
11. 11.—17. 11.	170	1,0325	5,187	14,613	14,385	3,898	3,998	0,887
18. 11.—24. 11.	170	1,0332	5,349	14,982	14,297	4,037	4,101	0,895
25. 11.— 1. 12.	152	1,0329	5,304	14,854	14,017	3,722	4,186	0,917
2. 12.— 8. 12.	150	1,0331	5,963	15,695	15,119	4,023	4,069	0,940
9. 12.—15. 12.	146	1,0334	5,494	15,206	15,405	—	4,473	—
16. 12.—22. 12.	132	1,0341	5,587	15,492	15,424	4,403	4,310	0,985
23. 12.—29. 12.	104	1,0340	6,204	16,208	16,070	4,233	4,303	0,982
30. 12.— 7. 1.	82	1,0345	5,300	15,248	15,036	—	—	—

die übrigen Werte die Mittelzahlen aus drei bzw. zwei Untersuchungen der betreffenden Woche darstellen. Die berechnete und die direkt bestimmte Trockensubstanz sind somit nicht direkt miteinander vergleichbar, anderseits darf man aus der Summe der Einzelbestandteile — da ja der Fettgehalt täglich bestimmt wurde — einerseits und der bestimmten Trocken-

substanz anderseits keine Schlüsse hinsichtlich der Menge der nicht bestimmten Restsubstanzen ziehen.

Hinsichtlich der Zusammensetzung der Milch in den ersten $3^1/_2$ Monaten ist nichts Besonderes zu bemerken, sie kann als vollkommen normal gelten. Die Folgen der Operation äußern sich zunächst in einem rapiden Absturz der Milchmenge. Während sie sich in den der Operation vorausgehenden Wochen auf rund 850 bis 900 g hielt, überschreitet sie nur in der zweiten Woche nach der Operation 500 g, um von da an ziemlich rasch und gleichmäßig abzusinken. Noch deutlicher tritt diese Erscheinung zutage, wenn wir die täglichen Milchmengen und ihre Zusammensetzung kurz vor und nach der Operation berücksichtigen (vgl. Tabelle II).

Tabelle II.

Datum	Milchmenge	Spez. Gewicht	Fettgehalt	Trockensubstanz		Gesamtstickstoff	Milchzucker	Asche
				berechnet	bestimmt			
	g		%	%	%	%	%	%
1. 8.	830	1,0306	3,30	11,78	—	—	—	—
2. 8.	854	1,0303	3,55	12,10	11,832	0,4778	4,021	0,723
3. 8.	830	1,0302	3,85	12,43	—	—	—	—
4. 8.	937	1,0290	3,40	11,59	—	—	—	—
Am 4. 8. operiert								
5. 8.	673	1,0306	3,75	12,41	—	—	—	—
6. 8.	128	1,0318	4,73	13,89	13,559	0,6824	3,516	0,855
7. 8.	214	1,0300	3,13	11,52	—	—	—	—
8. 8.	406	1,0301	2,70	11,03	10,716	0,3944	4,226	0,763
9. 8.	397	1,0304	3,05	11,52	—	—	—	—
10. 8.	394	1,0298	2,67	10,92	10,596	0,4122	4,263	0,778
11. 8.	427	1,0294	3,25	11,51	—	—	—	—
12. 8.	433	1,0295	3,85	12,26	—	—	—	—
13. 8.	480	1,0288	2,95	11,00	—	—	—	—
14. 8.	608	1,0292	2,90	11,04	10,581	0,4274	3,887	0,727
15. 8.	513	1,0282	3,10	11,03	—	—	—	—
16. 8.	503	1,0284	3,20	11,20	10,864	0,4441	3,815	0,725
17. 8.	673	1,0284	3,05	11,02	—	—	—	—
18. 8.	575	1,0298	3,12	11,46	11,09	0,4557	3,984	0,717

Die starke Abnahme am zweiten Tage nach der Operation ist, wie der rasche Anstieg in den nächsten Tagen zeigt, als eine Reaktion auf die Operation an sich zu betrachten und hat mit dem Ausfall der Schilddrüse wohl nichts zu tun. Das gleiche gilt hinsichtlich der Zusammensetzung der Milch, die sich anscheinend zunächst nur sehr wenig ändert, erst gegen Ende September, also ca. 6 Wochen nach der Operation, wird

sie wesentlich gehaltreicher als vorher. Die Erhöhungen erstrecken sich in erster Linie auf den Fett- und den Stickstoffgehalt der Milch, während der Gehalt an Milchzucker im wesentlichen unverändert bleibt. Die einzige, sofort eintretende Veränderung erleidet der Aschengehalt der Milch, der vom Tage nach der Operation an erhöht ist und bis zum Ende der Lactation auch bleibt. Im ganzen erhalten wir also, wenn wir von der Milchmenge und dem Aschengehalt der Milch absehen,

Tabelle III.

Milch in der Woche vom	Gesamtstickstoff %	Eiweißstickstoff %	Caseinstickstoff %	Albumin- u. Globulinstickstoff %	Reststickstoff	Eiweißstickstoff in % des Gesamtstickstoffs	Caseinstickstoff in % des Gesamtstickstoffs	Caseinstickstoff in % des Eiweißstickstoffs	Albumin- und Globulinstickstoff in % des Gesamtstickstoffs	Albumin- und Globulinstickstoff in % des Eiweißstickstoffs
22. 4.—28. 4.	0,4386	0,4115	0,3627	0,0488	0,0271	93,82	82,70	88,15	11,12	11,85
29. 4.— 5. 5.	0,4476	0,4300	0,3636	0,0664	0,0176	96,06	81,23	84,55	14,83	15,45
6. 5.—12. 5.	0,4531	0,4401	0,3537	0,0864	0,0130	97,12	78,05	80,37	19,07	19,63
13. 5.—19. 5.	0,4775	0,4484	0,3616	0,0868	0,0291	94,03	75,82	80,63	18,21	19,37
20. 5.—26. 5.	0,4858	0,4669	0,3758	0,0911	0,0189	96,11	77,35	80,48	18,76	19,52
27. 5.— 2. 6.	0,4766	0,4604	0,3670	0,0934	0,0162	96,61	77,00	79,71	19,61	20,29
3. 6.— 9. 6.	0,4644	0,4427	0,3558	0,0869	0,0217	95,33	76,61	80,36	18,72	19,64
10. 6.—16. 6.	0,4671	0,4079	0,3400	0,0679	0,0592	87,32	72,78	83,34	14,54	16,66
17. 6.—23. 6.	0,4556	0,4231	0,3325	0,0906	0,0325	92,85	72,97	78,59	19,88	21,41
24. 6.—30. 6.	0,4619	0,4515	0,3509	0,1006	0,0104	97,75	75,96	77,71	21,79	22,29
1. 7.— 7. 7.	0,4561	0,4420	0,3536	0,0884	0,0141	96,89	77,51	80,00	19,38	20,00
8. 7.—14. 7.	0,4601	0,4371	0,3549	0,0822	0,0230	95,00	77,15	81,21	17,85	18,79
15. 7.—21. 7.	0,4473	0,4308	0,3456	0,0852	0,0165	96,31	77,26	80,22	19,05	19,78
22. 7.—28. 7.	0,4536	0,4437	0,3599	0,0838	0,0099	97,82	79,33	81,10	18,49	18,90
29. 7.— 4. 8.	0,4653	0,4375	0,3495	0,0880	0,0278	94,03	75,11	79,88	18,92	20,12
Am 4. 8., $5^1/_2$ Uhr nachm. operiert										
5. 8.—11. 8.	0,4965	0,4614	0,3820	0,0794	0,0351	92,92	76,94	82,79	15,98	17,21
12. 8.—18. 8.	0,4425	0,4048	0,3281	0,0767	0,0377	91,48	74,15	21,06	17,33	18,94
19. 8.—25. 8.	0,4072	0,3528	0,2846	0,0682	0,0544	86,63	69,90	80,68	16,73	19,32
26. 8.— 1. 9.	0,4403	0,3989	0,3301	0,0688	0,0414	90,58	74,96	82,75	15,62	17,25
2. 9.— 8. 9.	0,4193	0,3885	0,3163	0,0722	0,0308	92,65	75,44	81,42	17,21	18,58
9. 9.—15. 9.	0,4458	0,4118	0,3419	0,0699	0,0340	92,38	76,71	83,04	15,67	16,96
16. 9.—22. 9.	0,4631	0,4205	0,3382	0,0823	0,0426	90,89	73,09	80,42	17,80	19,58
23. 9.—29. 9.	0,4821	0,4649	0,3742	0,0987	0,0172	96,41	77,62	80,49	18,79	19,51
30. 9.— 6. 10.	0,5286	0,4933	0,3995	0,0938	0,0353	93,32	75,58	80,99	17,74	19,01
7. 10.—13. 10.	0,61[illegible]9	0,5835	0,4689	0,1146	0,0294	95,21	76,52	80,37	18,69	19,63
14. 10.—20. 10.	0,5813	0,5592	0,4456	0,1136	0,0221	96,20	76,65	79,86	19,55	20,14
21. 10.—27. 10.	0,6134	0,5837	0,4761	0,1076	0,0297	95,15	77,62	81,57	17,53	18,43
28. 10 — 3. 11.	0,6042	0,5776	0,4547	0,1229	0,0266	95,59	75,08	78,54	20,51	21,46
4. 11.—10. 11.	0,5990	0,5769	0,4689	0,1080	0,0221	96,30	78,26	81,27	18,04	18,73
11. 11.—17. 11.	0,6119	0,5975	0,4694	0,1281	0,0144	97,64	76,72	78,57	20,92	21,42
18. 11.—24. 11.	0,6338	0,6215	0,4872	0,1343	0,0123	98,06	76,88	78,40	21,18	21,60
25. 11.— 1. 12.	0,5842	0,5661	0,4476	0,1185	0,0181	96,90	76,61	79,07	20,28	20,93
2. 12.— 8. 12.	0,6462	0,6364	0,4970	0,1394	0,0098	98,48	76,91	78,10	21,57	21,90
10. 12.—22. 12.	0,6912	0,6803	0,5409	0,1394	0,0109	98,43	78,26	79,51	20,17	20,49
23. 12.—29. 12.	0,6645	0,6536	0,5126	0,1410	0,0109	98,37	77,14	78,42	21,23	21,58

ein recht indifferentes Bild, das eine Wirkung der Schilddrüsenentfernung kaum erkennen läßt, außer der vielleicht, daß die Milch relativ früh den Eindruck einer altmelken Milch macht.

Recht geringfügig sind auch die Veränderungen, die in der Verteilung des Stickstoffs auf die einzelnen Bestandteile zum Ausdruck kommen. (Tabelle III.) Nur in den ersten Wochen nach der Operation ist die Menge des nicht auf Eiweiß entfallenden Stickstoffs prozentual erhöht und zwar sowohl im Verhältnis zur Milch als auch im Verhältnis zum Gesamtstickstoff. Dieser Unterschied verschwindet aber bald wieder und wir erhalten zwei Monate nach der Operation ein Verhältnis, das ganz dem gleicht, wie es vor derselben bestand.

Tabelle IV.

Datum	Aschegehalt %	Gehalt der Milch an CaO %	Gehalt der Milch an P_2O_5 %	Gehalt der Asche an CaO %	Gehalt der Asche an P_2O_5 %	Verhältnis von CaO : P_2O_5
14. 5.	0,650	0,195	0,215	29,98	33,08	100 : 110,4
21. 5.	0,684	0,190	0,207	27,76	29,60	100 : 106,6
30. 5.	0,700	0,169	0,181	24,10	25,90	100 : 107,5
4. 6.	0,663	0,167	0,221	25,18	33,38	100 : 132,5
11. 6.	0,718	0,176	0,198	24,53	27,49	100 : 112,1
18. 6.	0,642	0,147	0,194	22,96	30,21	100 : 131,6
25. 6.	0,735	0,173	0,188	23,48	25,59	100 : 109,0
2. 7.	0,693	0,159	0,188	23,00	27,07	100 : 117,7
9. 7.	0,725	0,173	0,194	23,80	26,74	100 . 112,4
16. 7.	0,718	0,168	0,184	23,41	25,58	100 : 109,2
23. 7.	0,712	0,192	0,202	26,98	28,34	100 : 105,0
30. 7.	0,737	0,175	0,197	23,68	26,71	100 : 112,8
6. 8.	0,855	0,238	0,241	27,90	28,23	100 : 101,2
14. 8.	0,727	0,150	0,253	21,66	34,76	100 : 160,5
22. 8.	0,806	0,157	0,236	18,70	29,31	100 : 156,8
29. 8.	0,774	0,154	0,239	19,95	30,87	100 : 154,7
4. 9.	0,849	0,166	0,244	19,57	28,72	100 : 146,8
11. 9.	0,804	0,177	0,248	17,46	30,80	100 : 140,1
18. 9.	0,857	0,187	0,250	21,77	28,47	100 : 133,9
27. 9.	0,868	0,192	0,308	22,10	35,46	100 : 160,1
4. 10.	0,930	0,212	0,295	22,76	31,73	100 : 139,4
10. 10.	0,875	0,212	0,277	24,25	31,67	100 : 130,5
16. 10.	0,979	0,243	0,342	24,83	34,92	100 : 140,6
23. 10.	0,873	0,209	0,291	23,95	33,36	100 : 139,3
30. 10.	0,892	0,243	0,297	27,25	33,34	100 : 122,3
6. 11.	0,870	0,209	0,255	24,05	29,25	100 : 121,6
13. 11.	0,902	0,222	0,308	24,62	34,22	100 : 139,0
20. 11.	0,900	0,244	0,321	27,18	35,61	100 : 131,0
27. 11.	0,932	0,226	0,314	24,22	33,64	100 : 138,9
4. 12.	0,927	0,255	0,315	27,48	33,95	100 : 123,5
18. 12.	0,978	0,265	0,374	27,11	38,23	100 : 141,0
26. 12.	0,982	0,270	0,376	27,47	38,29	100 : 139,4

Das Verhältnis der einzelnen Eiweißkörper untereinander wird kaum geändert.

Tiefergehende Änderungen konnten lediglich in der Menge und Zusammensetzung der Asche festgestellt werden. Der Aschengehalt der Milch steigt sofort nach der Operation unvermittelt an, hält sich dann längere Zeit auf einer Höhe von 0,8 bis 0,9 %, um schließlich acht bis neun Wochen nach erfolgter Operation auch den Wert von 0,9 % zu übersteigen. Auch die Zusammensetzung der Asche ist, wie aus Tabelle IV hervorgeht, recht weitgehenden, unvermittelt eintretenden Veränderungen unterworfen worden. Während die Menge des Kalkes in der Milch zunächst eine Abnahme erfährt und erst nach einigen Wochen mit zunehmendem Aschengehalt wieder ansteigt, erfährt die Menge der mit der Milch abgeschiedenen Phosphorsäuremenge eine plötzliche Steigerung, die anfangs der Steigerung des Aschengehaltes fast parallel verläuft, im weiteren Verlauf der Lactation sie jedoch rasch überholt. Die Folge davon ist eine Verschiebung des Verhältnisses $CaO : P_2O_5$, das vor der Entfernung der Schilddrüse annähernd 100 : 110 betrug, nach derselben aber sehr unvermittelt auf 100 : 160 anstieg und sich noch längere Zeit auf ähnlicher Höhe hielt. Erst im späteren Verlaufe der Lactation sank dieses Verhältnis wieder ab, ohne indes dem ursprünglichen Verhältnis wieder nahezukommen, der prozentische Phosphorsäuregehalt der Asche blieb bis zum Ende der Lactation dauernd wesentlich erhöht, während der Kalkgehalt der Asche sich nur geringgradig über die Norm erhob.

Die Reaktion der Milch ist durch die Operation offenbar nicht unwesentlich beeinflußt worden. Vor derselben zeichnete sie sich durch eine sehr niedrige Acidität aus — sie betrug nur etwa 5 bis 6 Säuregrade nach Soxhlet-Henkel —, die sie noch etwa vier Wochen nach der Operation beibehielt. Dann aber stieg sie ziemlich rasch auf 7 bis 8 Säuregrade, zwei Monate nach der Operation überstieg sie in der Regel den letzteren Wert und hielt sich in den letzten zwei Monaten fast dauernd auf ca. 9 Säuregraden. Die mit der Bestimmung der Reaktion gleichzeitig angestellte Alkoholprobe ergab vom ersten Tage der Untersuchung an stets eine Gerinnung, auch bei der sehr niedrigen Acidität von ca. 5 Säuregraden. Hierdurch

werden die Beobachtungen von Koning[1]) und Weber[2]) bestätigt, die ebenfalls bei Ziegenmilch fast ausnahmslos einen positiven Ausfall der Alkoholprobe feststellen konnten. Die Kochprobe hingegen war ständig negativ. Gelegentlich meiner früheren orientierenden Beobachtungen konnte ich hingegen des öfteren eine Gerinnung der in ihrem Aussehen stark veränderten Milch beim Erhitzen feststellen.

Die einzige sinnfällige Änderung in dem Verhalten der Milch war das plötzliche Ausbleiben der Peroxydasenreaktion mit Guajactinktur etwa von der sechsten Woche nach der Operation an, während die Rothenfußersche Reaktion (Paraphenylendiamin-Guajacol) und die Benzidinreaktion der Milch bis zum Schlusse erhalten blieben, wenn sie auch im Laufe der Zeit in viel schwächerem Maße auftraten als vor der Operation.

Dieses Verhalten zeigt also ebenso, wie die Änderung in der Zusammensetzung der Milchasche, zweifelsohne eine, wenn auch sehr geringgradige Funktionsstörung der Milchdrüse infolge der Entfernung der Schilddrüse an. Wie ich schon erwähnte, waren in früher beobachteten Fällen die Folgen der Schilddrüsenoperation sehr viel deutlicher erkennbar, indem das Eutersekret eine von der normalen Milch durchaus verschiedene äußere Beschaffenheit annahm. Bei den vorliegenden Untersuchungen war dies nicht der Fall. Die Milch behielt bis zum Schlusse der Lactation ihr normales Aussehen, das sie auch vor der Operation aufwies.

Eine sichere Erklärung für diese seltsame Erscheinung kann zur Zeit noch nicht gegeben werden. Mit großer Wahrscheinlichkeit aber ist anzunehmen, daß bei diesem Tiere accessorische Schilddrüsen vorhanden sind, die kompensatorisch für die operativ entfernten eintraten und sie, wenn auch nicht vollkommen — das beweisen die immerhin vorhandenen geringgradigen Änderungen —, so doch nahezu zu ersetzen vermochten. Das Auftreten accesorischer Schilddrüsen ist keine Seltenheit. Biedl[3]) gibt an, daß bei Hunden durch-

---

[1]) Koning, Milchw. Centralbl. 5, 179, 1909.

[2]) Weber, ebenda 6, 556, 1910.

[3]) Biedl, Innere Sekretion. 2. Aufl., S. 157.

schnittlich einmal unter 5 Fällen ein accessorisches Schilddrüsenstück anzutreffen ist, und Zietzschmann[1]), der eine große Zahl von Ziegen operierte, konnte bei mehreren von diesen ebenfalls accessorische Schilddrüsen feststellen, die zum Teil stark hypertrophiert waren und infolgedessen das Auftreten der Ausfallserscheinungen hinderten. Die Wahrscheinlichkeit, daß solche accessorischen Schilddrüsen bei der von mir untersuchten Ziege vorhanden sind und die Wirkung der Operation unterdrückten, ist also sehr groß. Da das Tier noch weiteren Versuchen dienen soll und infolgedessen eine Tötung jetzt nicht angängig ist, so muß die Feststellung vorläufig unterbleiben.

Zum Schlusse sei noch eine Beobachtung mitgeteilt, die vielleicht ebenfalls als eine Folge der Schilddrüsenoperation zu betrachten ist. Eine wenige Tage vor Abbruch des Versuchs erhaltene Milchprobe, die drei Tage im Eisschrank aufbewahrt worden war, zeigte einen intensiven Geruch nach freien Fettsäuren, bei der Behandlung der Milch mit Alkohol ging eine große Menge derselben — nach dem Geruche zu urteilen, auch Buttersäure — in denselben über, beim Verdampfen des Alkohols verblieb eine reichliche Menge von freien Fettsäuren. Es hatte also eine lebhafte Lipolyse stattgefunden. Da die Milch des nicht operierten Tieres nicht nach dieser Richtung geprüft worden war, die Milch auch nicht unter aseptischen Kautelen aufbewahrt worden war, so läßt sich nicht sagen, ob hier eine bakterielle Spaltung des Fettes stattgefunden hat oder ob diese als rein fermentativer Vorgang zu betrachten ist. Bei meinen weiteren Untersuchungen über diesen Gegenstand werde ich auch dieser Frage meine Aufmerksamkeit zuwenden.

---

[1]) Zietzschmann, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 23, 461, 1907.

Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im Blute bei Geisteskrankheiten[1]).
(Neue Beobachtungen zur Kritik der Bornstein-Peritzschen Lecithinämie.)

Chemische Beiträge zur Kenntnis spezifischer Lipämien II.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 27. Februar 1918.)

Einleitung.

Im Zusammenhange mit einer vorhergehenden Mitteilung, die mit Hilfe der Anschauungsform des Restphosphors im menschlichen Blutserum der Frage nach den Umwandlungen im Gefolge von „Lecithinämien bei Geisteskrankheiten" neue Gesichtspunkte verleihen sollte[1]), sei nunmehr über diese selbst auf deskriptiver Basis berichtet. Solche „Lecithinämien" sind besondere Formen des allgemeinen Begriffes der Lipämie. Das über sie zusammengetragene Material ist ein relativ enges. Die Frage an sich ist nach kurzen Impulsen fast völlig aus dem Gesichtskreise entschwunden und hat auf Grund der ihr unterstellten Hypothese im Laufe der letzten Jahre gewisse ablenkende Betrachtungen erfahren. Abgesehen von diesen Tatsachen, die an sich dazu anregen mußten, weiteres deskriptives Material zu beschaffen, um von diesem aus erneut zu den derzeitigen Voraussetzungen und Folgerungen Stellung nehmen zu können, sind es die nunmehr zu achtbaren Fortschritten

[1]) Die Formulierung des Titels folgt dem Abschlusse der bisherigen engeren Literatur (Bornstein, 1911).

gediehenen methodischen Vorbedingungen, die zu einer Wiederbelebung des Themas anregen. Die Analyse hat beträchtliche Ausgestaltung erfahren, besonders nach der Seite ihrer Anwendbarkeit für ein größeres Material, seit sie auf den Maßstab mikrochemischer Verhältnisse reduziert worden ist. Es ist gleichzeitig ermöglicht, mit anderen Methoden die alten Ergebnisse vergleichend zu überprüfen. Über diese Absichten hinaus zielt jedoch das Bestreben, die „Lecithinämie der Geisteskranken" nicht isoliert als solche, sondern als Teilerscheinungen des vollständigen Komplexes der Fette und Lipoide zu beschreiben. Die „Lecithinämie" wird damit an den Maßstab der sonst zur Beobachtung stehenden „Lipämien", wenn wir diese Bezeichnung beibehalten wollen, herangerückt. Dabei wird sich dann zeigen, inwieweit tatsächlich eine relativ exzessive Lecithinsteigerung als solche in Frage kommt, oder anderseits, ob eine solche in bescheidenen Abweichungen gegen sonstige allgemein-lipämische Zustände stehen bleibt. Es wird die Frage nach dem Aufbau des „Gesamtätherlöslichen", nach seinen Partialfraktionen, Individuen und Bruchstücken zu stellen sein, wobei dann auch der Beziehungen gedacht werden kann.

Ursprüngliche Auffassungen und Ergebnisse. Entwicklung der Lipämiefrage. Gegenwärtiger Stand.

Die „Lecithinämie der Geisteskranken" ist in die pathochemischen, neurologischen und serologischen Wissensgebiete hineingetragen worden von G. Peritz und A. Bornstein. Sie figuriert erst relativ spät unter dieser Bezeichnung und verdankt theoretischen Betrachtungen des ersteren „über das Verhältnis von Lues, Tabes, Paralyse" ihre Entstehung. Er ging davon aus, daß luetische Toxine in Bindung zum Lecithin treten. mit diesem gemeinsam den Körper verlassen, dem sie schon vorher unter Entfremdung gegen die eigenen Aufgaben entzogen sind. Daraus folgerte Peritz die Möglichkeit einer Lecithinverarmung des Körpers, die ihrerseits bestimmend für die Pathologie der fraglichen Erkrankungen sein sollte. „Aus einer Organerkrankung würde eine Allgemeinerkrankung", indem überall das kolloidchemisch usw. wichtige Lecithin festgelegt und aus praktischer Arbeit entfernt wäre. „Es müßten neben dem Zentralnervensystem Organe phosphatidarm und damit geschädigt werden." Die spekulative Verknüpfung mit den Verhältnissen der Wa.-R. wird uns später beschäftigen. Die Befunde weisen auf Hyperlecithinämien, auf zeitweise große Mengen von Lecithin im Kot Tabischer und Paralytischer, auf Lecithinschwund im Knochenmark hin.

Die methodischen Unterlagen, diskutiert nach Thudichum, Erlandsen, Bang, Thierfelder, Schulze, beruhen auf einer Extraktionsmethode. Bei 36° mit Sand getrocknetes Serum wird nacheinander mit Äther, Alkohol, Chloroform (je 24 Stunden) extrahiert, das Rohfett nach Neumann verarbeitet. Berechnung von P auf Lecithin durch Annahme von 3,6°/₀ P (unter theoretischer Rücksichtnahme auf andere Phosphatidbildner). Die Schwierigkeiten der älteren Extraktionsmethodik werden erkannt und praktisch gewürdigt, auch gegen niedere Zahlen von Kaufmann diskutiert, wie auch die Möglichkeit proteinartiger oder peptonartiger Bindung bewertet wird. Mit der gewählten Arbeitsweise ergab sich für 12 normale Sera eine Variationsbreite von 0,87°/₀₀ bis 2,66°/₀₀; 9 Fälle lagen über 2°/₀₀ (2,06 bis 2,66, zumeist 2,2 bis 2,3). Es wird als Durchschnitt ein Umfang des (mittleren) Vorkommens von 2,0°/₀₀ bis 2,2°/₀₀ angesetzt. Die Zahlen von Erben (1,8°/₀₀, 2,0°/₀₀, 2,1°/₀₀) und Bornstein (s. unten) (2,0°/₀₀ bis 2,4°/₀₀) werden als gute Seitenstützen angesehen. Der Fettgehalt zeigte eine größere Breite von 0,56°/₀₀ bis 5,74°/₀₀, allerdings zumeist um ein Mittel von 3°/₀₀ gelagert. Mit Hilfe dieser Normalien geschieht die Beurteilung der pathochemischen Ergebnisse. Der Gesamtdurchschnitt von 10 Luetikern liegt unter Ausschluß tieferer und tiefster Werte an sich höher und erhebt sich viermal über 3°/₀₀. Bei 19 Tabikern und 7 Paralytikern ist der Gesamtdurchschnitt durchaus erhöht mit nicht wenigen übernormalen Zahlen. Die Höchstzahl ist 6,15°/₀₀. Bornsteins Zahlen von 4,0°/₀₀ bis 4,4°/₀₀ bei Paralytikern entsprechen prinzipiell diesen Angaben. Über einen Fall ohne Zuwachs hören wir unten. Gegen diese Zahlen bleibt der Fettgehalt zurück, indem er — bei den Kranken sehr variabel — seltner (obere) Extreme gegen die genannten Normalien darbietet. Peritz durfte also geradezu „von einer Lecithinämie sprechen“, die 50°/₀, 100°/₀, 200°/₀ erreicht, (u.) und deren Plus zur Norm als achtbarer Teil des Gesamtphosphatids die in Bewegung geratene, zur Vernichtung durch Ausscheidung bestimmte Masse darstellt, die einen Maßstab für die Verarmung zu bieten vermag.

Die schon genannten Resultate Bornsteins entstammen einer größeren Untersuchung über die Chemie des Blutes bei Geisteskrankheiten, in der die Frage aufgeworfen war, „ob neben den serologischen Abweichungen (Wa.-R) auch grobchemische Veränderungen nachweisbar seien“. Es wurde die Titrationsalkalescenz bestimmt und nach ihrem Verhalten in den Abschnitten der Paralyse beschrieben. Zusammengehalten mit der mittelbar wichtigen Bestimmung des Eiweiß-N wurde zum Teil eine schwache Abnahme der Alkalescenz bei progressiver Paralyse zugestanden. Das Verhältnis Albumin zu Globulin war etwa normal, der Fibringehalt mehrfach sichtlich gesteigert. Befunde der geschilderten Art können uns nicht hier, wohl aber bei einer (späteren) Diskussion der Erklärungsursache der Wa.-R beschäftigen. Lecithin war zum Teil erhöht, zum Teil an der oberen Grenze der Norm liegend befunden worden. (Normal, 2,0°/₀₀ bis 2,4°/₀₀; Fälle 2mal 2,7°/₀₀, 2mal 2,8°/₀₀, 1mal 2,9°/₀₀, 1mal 3,5°/₀₀.)

Nachdem nun Kaufmann und Hoppe die Befunde Peritz', der die

mit Lecithingaben der Lecithinverarmung entgegentreten wollte, bestätigt hatten, ruhte die Frage einige Jahre auf ihren doch immerhin bescheidenen Grundlagen, bis Bornstein erneut auf die Verhältnisse aufmerksam machte, die sich in der Literatur inzwischen durch Zitate und Diskussion herausgebildet hatten, und seinerseits nun kleine Beiträge — Ausdehnung auf die Epilepsie — zur Darstellung brachte. In dieser Mitteilung, deren Grundzüge wir in einer voraufgehenden Erörterung der „Lecithinämie“ an Hand des neuartigen Gesichtspunktes des „Restphosphors“ brachten, kehren Zahlen von 3‰, über 3‰. 4‰ und 4,6‰ (Extrem) bei 9 Fällen mehrfach wieder. Hier nennt Bornstein Normalien der Lecithinämie von 1,6‰ bis 2,5‰, die also entweder eine Richtigstellung oder Erweiterung früherer Angaben sein müssen. Gerade diese wichtige Sache, Fußpunkt und Maßstab der aufgerollten Frage, bleibt mit den bescheidenen Angaben abgetan, die niemals gegengewertet und kritisiert wurden. Speziell in der zweiten Mitteilung Bornsteins, in der Raum für so manche Besprechung kontroverser Dinge zu sein scheint, kommt diese Grundfrage schlecht weg, während manche übereinstimmende Urteile wiederholt werden. Die Peritzsche „Theorie der Allgemeinerkrankung wird nicht von der Hand gewiesen“, aber auf Grund von Tatsachen wird ihr eine „nicht mehr so ausschlaggebende Rolle“ zugewiesen bzw. vorausgesagt. Die auf anatomisch-mikroskopischen Beobachtungen von Alzheimer, Nißl, Weber fußende Lehre vom starken Abbau, besonders des lipoidreichen Markes, wird erörtert; nach ihr soll (mit anderen Schlacken) Lecithin ins Blut gelangen und den gegebenen weiteren Schicksalen (sekundärer Ablagerung oder Destruktion) bzw. endlicher Ausscheidung anheimfallen. Neu ist in Ergänzung bzw. Abweichung gegen die ursprünglichen Ergebnisse von Peritz über die Pathogenese von Tabes und Paralyse der Befund (gleichartig) typischer Lecithinämien, die bei Geisteskrankheiten vorkommen, die zu luetischer Infektion in keiner Beziehung stehen. Auch hierfür kann die Theorie der Lecithinverarmung (des ganzen Organismus) von Interesse sein und bleiben. F. Lesser (1912) bearbeitete die Frage seinerseits.

Fassen wir nunmehr den Stand der Frage nach den Ergebnissen der Jahre 1908 bis 1911 und auf dem Fuße der spezialistischen Erörterungen obiger Forscher zusammen, so würde das Folgende zu sagen sein:

1. Nach den beschrittenen Wegen, die ihrerseits der Gegenprüfung unter neuen Gesichtspunkten offen sind, haben sich tatsächlich gut 80% (wo nicht mehr) eindeutiger Hyperlecithinämien bei den beschriebenen Krankheiten zur Darstellung bringen lassen, die ihrerseits häufig beträchtliche Grade erreichen (s. obige Befunde), die Norm um 100% bis 200% zu überschreiten vermögen.

2. Zwar ist das gesamte bisherige Material relativ eng bemessen

und auch nicht in allen Teilen genügend analysierbar. Andrerseits ist es teilweise durch speziell wichtige Nebenangaben erläutert (Peritz). Die Zahlen Bornsteins sind im lipämischen Komplex nur isolierte Befunde. Wir meinen hier, daß zu der gewollten, begrifflichen Festlegung der (gesteigerten) Lecithinämie die durchgehende Untersuchung des Ätherlöslichen überhaupt gehört. Peritz hat diesem Gedanken durch seine Versuche zur Bestimmung des „Fettgehaltes" zu dienen gesucht, Bornstein nicht. Ersterer hat, obwohl seine Analysen kaum durchaus stichhaltig sein dürften, doch das eine zu erreichen geglaubt, den Befund, daß im allgemeinen die Lecithinzahlen, verglichen mit denen des Fettes, weit größere Schwankungen aufwiesen. Auch hat Peritz die Ursache der Fettbefunde zu diskutieren gesucht. Auf seiner diesbezüglichen Äußerung fußt die ganze Angelegenheit dieser Lecithinämien. Bornstein, dem sehr um seine Anerkennung in der Sache zu tun war, hat diesen, u. E. sehr wesentlichen Forderungen nicht entsprochen. Man wird um den Zwang, diese (Hyper-)Lecithinämien als Teilerscheinungen eines, wie immer gearteten, lipämischen Komplexes zu bewerten, nicht herumkommen. Erst gewissenhafte Bemühungen über das (parallel geprüfte) Verhalten der Fettsäuren und des Neutralfettes werden erweisen können (wenn man von Cholesterin hier abzusehen gewillt ist), ob tatsächlich eine spezifische Form pathologischer Lipämien — die „einseitige Lecithinämie" bestanden habe bzw. bestehen könne, die den Autoren vorgeschwebt hat. Andernfalls hätten wir es eventuell mit den so verbreiteten (allgemeineren) Lipämien mäßiger Grade zu tun, für die doch häufig genug pathologische Möglichkeiten an sich gegeben sein können, und deren strukturelle Variabilität keinem Zwange zur Erklärung durch Lecithinverarmung bzw. durch Lipoiddestruktion des Gehirns usw. den Weg zu weisen braucht. In der letzteren Anknüpfung wird wiederum nach weiteren Erkenntnismöglichkeiten gesucht, der Tunlichkeit eines irgendwie gearteten Nachweises von Spaltprodukten des Lecithins im Plasma (Restphosphor s. unten) oder im Harn (organische P-Komplexe, s. später) oder im Kote (Lecithin in demselben, Peritz). Wieder ist es nur Peritz, der seinen Befunden und ihrer Theorie die nötigen Untersuchungsverfahren und entsprechende Gegenprüfungen zur Seite gestellt hat. Es wird sich also darum handeln müssen, bei der zu berichtenden Nachuntersuchung ganz andere Seitenargumente ins Treffen zu führen, vor allem die (tunlichst lückenlose) Beschreibung des lipämischen Komplexes durch Aufteilung des Gesamtätherextraktes.

Es hat also nach den bisherigen Resultaten (in erster Linie von Peritz) tatsächlich Grund zur Annahme einseitiger (gesteigerter) Lecithinämien vorgelegen.

3. Die Frage der „Normalien" ist mangelhaft diskutiert

(s. oben), hat aber auf die meisten Zahlen keinen (erheblichen) störenden Einfluß gegenüber der formulierten Lehre.

4. Die methodischen Vorbedingungen sowie die Erkenntnis, daß die Errechnung des „Lecithins" nach angenommener Normalstruktur aus den P-Werten nur einen genäherten, schematischen Wert zu bieten vermöge, werden bei Peritz entsprechend erläutert.

Bornstein rekapituliert letztere Erwägung noch einmal.

Inzwischen folgten nun Untersuchungen von anderer Seite und im Dienste an sich abliegender Fragestellungen, die aber von großem Einflusse auf die allgemeinen (normalen und pathologischen) Vorstellungen über die chemische Zusammensetzung von Blut und Plasma, besonders an Lipoiden und Fetten, wurden. Ferner spann sich die Theorie der Interferenz von Lipoiden im Bilde der Wa.-R. fort und ging zum Teil auf die Schwankungen im Cholesterinbestande über. Beobachtungen über diesen wurden der Lehre von Destruktionen des Gehirns mit Spiegelbildern in Lipoidämien unterstellt (s. oben).

Beumer und Bürger traten in einer größeren Reihe systematischer Untersuchungen über die chemische Pathologie von Blut und Serum (1913) mit einem reichhaltigen Berichte über die Fette und Lipoide usw. bei Krankheiten hervor. Die Ergebnisse dieser mühevollen und ungemein ergiebigen Arbeiten werden an sich von großem Werte sein und bleiben. Die Methodik, im wesentlichen auf Trennung von Zellen und Plasma sowie auf Trocknung und Extraktion gebaut, muß daher, obwohl derzeit eine der gegebenen Arbeitsweisen, an den inzwischen offenkundiger gewordenen und erörterten Mängeln kranken. Inwieweit derartige Bedenken die Stichhaltigkeit der reichhaltigen und instruktiven Befunde zu beeinflussen vermöchten, ist hier nicht zu prüfen. Ein großer Wert ist den getrennten Bestimmungen an Plasma und Körperchen beizumessen, der Konzentration überhaupt und den mittelbaren Lehren, unter anderem dem alten Satz von Hoppe-Seyler über die (weitgehende) Unabhängigkeit der chemischen Zusammensetzung von Erythrocyten gegen ein lipämisches Plasma. Sehr gefördert wird auch die Cholesterinfrage (Esteranteil); hohe Zahlen für letztere werden auch durch Freiwerden von Fettsäuren (Vergleich mit Atheromatose der Aorta) gedeutet. Zu uns sprechen die breiten Variationen des lipämischen Komplexes bei Krankheiten, aus denen wir Rückschlüsse auf Interferenzen bei unseren Fällen zu machen haben, und die wir selbst später erweiterten; zur Vorsicht gegen zu schematische Auffassung über die Tendenz bestimmter Pathochemien mahnen stärkste Abweichungen unter wenigen Fällen (z. B. Lecithin der Erythrocyten, zwischen 4‰ (Erben hoch) und 1‰ (Beumer-Bürger, niedrig) über 2‰, dieselben o. B.). Inanition

bzw. Kachexie erscheinen gegenseitig orientiert mit intakten Zellen und verarmtem, wasserreichen Serum bzw. der umgekehrten Gruppierung (Feigl, s. unten). Ikterus und Cholämie disponieren zu hohen Lipämien in maskierter (wie später gesagt wurde) Form mit Gehalten, die denen bei Diabetes kaum nachstehen. Lecithin kann relativ gering bleiben. Auf dessen Beteiligung am Gesamätherlöslichen, speziell auch gegenüber dem Fette, haben wir zu sehen. Bei schwerem Diabetes macht es einmal 50% des ersteren (0,97%) aus, ein anderes Mal ein Neuntel (Extreme), bei Ikterus ein Drittel bis ein Fünftel (s. später, Feigl), bei Kachexie (ein Fünftel). Das Material belegt statistisch die Frage der diabetischen Lipämie (z. B. gegenüber einer Zusammenstellung von Hegler) im Verfolg der Klemperer-Umberschen Definition, die auf gleichzeitig erhöhte Lipoide Bedacht nimmt (Lipoidämie). Im ganzen darf man sagen, daß mit großer Mühe (und Erfolg) Einzelfälle systematisch durchgearbeitet und beschrieben sind, daß aber die Zahl besonders für bestimmte Krankheitsbilder zu eng ist. Diesen doch recht fühlbaren Mangel auszugleichen, bedurften wir im wesentlichen methodischer Fortschritte. Spezialistisches über die Lecithinämie der Geisteskrankheiten berichten Beumer-Bürger nicht; immerhin ersehen wir aus ihren Arbeiten die Möglichkeit vielseitiger Verknüpfungen.

Speziell mit der Frage der pathologischen Lipoidämie, darunter auch derjenigen der Lecithinämie, beschäftigten sich Klein und Dinkin. Sie erörterten die (normale bzw. die abnorm gelenkte) Phosphatidsynthese mit Rücksicht auf die Verhältnisse des Cholesterinumsatzes und betonten den Wert spezifischer Prüfungen, dabei unglücklicherweise auf die zwar umfangreichen, aber in kaum einem Punkte tatsächlich beweiskräftigen und deskriptiv dauerwertigen Arbeiten Letsches hinweisend. Neben Beumer-Bürger tritt in der Erfüllung einer solchen Forderung heute das Material von Gettler und Baker, wie besonders die Arbeiten von Bloor und der Untersucher (u. a. Feigl), die sich auf seine methodischen (s. unten) Grundlagen stützten. Sie diskutierten ferner nach dem Vorgange von Friboes (Saponoid) die sagenhaften „Restlipoide", unter denen sie Seifen vermuteten. Wir verweisen auf bestimmte eigene Beobachtungen, die geeignet sind, Gallensalze, Gallenfarbstoffe und ihre eventuelle Trümmer, Oxycholesterine, N-Spaltstücke der Proteine und Fettsäuren (bzw. deren noch unbekannte Umbaustoffe, z. B. der ungesättigten Säuren), andere Chromogene hier zur Erklärung heranzuziehen.

Ihre Arbeit beruht auf Trocknungs- und Extraktionsverfahren, die sie nochmals nach Leistung und Ergiebigkeit zu charakterisieren wünschen, und auf dem Bestreben der Fraktionierung. Sie treffen auf „jecorinartige Stoffe" nach Baldi und Letsche und auf die Notwendigkeit, den P-Gehalt zum Lecithin zu verrechnen. wobei sie indes die Technik von Mac Lean zur Abtrennung fremder N-Beimengungen nicht verwandten (s. unten), eine Aufgabe, die hinsichtlich nichtlipoidischer P-Körper wohl noch wichtiger ist, und die erst von Bloor, Feigl,

Greenwald praktisch berücksichtigt wurde. Für die Angelegenheit der pathologischen Lecithinämie bei Lues usw. sind wir durch ihre Befunde kaum weitergekommen, es sei denn, daß man eine entschiedene Vermehrung gegenüber sonstigen (besonders normalen) Fällen vermissen wollte. Auch hier spielen methodische Unterlagen eine große Rolle; das an sich verdienstvolle Bestreben der Fraktionierung führte zunächst nur zur Verzettelung des Nichteiweiß bzw. Nichtsalz-P, ohne daß die Phosphatidfraktion im ganzen stichhaltig wiedergegeben bzw. andernfalls nach ihren Anteilen verbindlich dargestellt wäre. Anders in der Cholesterinämie. Sie stellen somit einen Spezialabschnitt der Frage nach den Serumphosphatiden dar.

Kimura und Stepp traten (1911) mit Untersuchungen über den Gehalt des Blutserums an ätherlöslichem Phosphor bei verschiedenen Krankheiten hervor. Sie fußen auf den Anschauungen von Fischer bzw. von Klemperer und Umber über die Beteiligung der Lipoide im Bilde der diabetischen Lipämie und geben Zahlenwerte für 36 Fälle, deren Extreme 0,5 g (Minimum) und 2,6 g (Maximum) in 1000 Tl. Serum gefunden wurden. Uns interessieren hier besonders Anläufe zur Diskussion bzw. praktischen Betätigung der Einsicht, daß Hydrämien mit niedrigen Lecithinzahlen verknüpft sein können. Später hat Feigl bei seinen Ödemfällen (1915 bis 1917) immer entsprechend argumentiert. Sie fordern (für die Zukunft) parallele Prüfungen der Serumkonzentration, um einwandfreiere Vergleiche zu erzielen. Kimura und Stepp fanden Übereinstimmung mit Klemperers und Umbers Ergebnissen; die Befunde von Peritz liegen höher. Doch fanden auch sie bei Lues, Tabes, Taboparalyse (in unbehandelten Fällen) „erhöhte Werte". Abgesehen nun davon, daß dieses Urteil, wenn man das ganze Beobachtungsmaterial überblickt, doch kaum genügend zu nennen ist, handelt es sich um viel zu fühlbare Mängel in den „Normalien" — gerade bei den umstrittenen Fällen, als daß ihre Befunde wirklich für oder gegen die Lecithinämie nach der Bornstein-Peritzschen Theorie ausgedeutet werden könnten. Hinzu kommen zahlreiche Überlegungen aus den methodologischen Verhältnissen unserer Aufgabe, z. B. die Tunlichkeit einer Abgrenzung ätherlöslicher P-Körper gegen andere supponierte Phosphatide und das Rechnen mit einer solchen Fraktion usw. (s. unten). Ferner sind aber Tabesfälle normal, was zwar kaum mit den schematischen Zahlen Bornsteins, aber besser mit den vollständiger untersuchten Peritz' übereinstimmte. Wie man sieht, ist unsere Aufgabe durch Kimura und Stepp kaum entscheidend vorwärts gebracht worden. Dagegen überwiegen ihre Angaben durch Nennung bzw. Bestimmung des gesamten Ätherextraktes diejenigen vou Bornstein. Uns interessieren u. a. mehrere höhere Zahlen bei erhöhtem Lecithin.

Unter den neueren Ergebnissen der Literatur seien hier (vgl. auch frühere Zitate) solche genannt, die Javal und Boyet mitteilten. Bei syphilitischer Aortitis fanden sie

21 % bis 73 % (!) Lecithin im Gesamtätherextrakt, also zum Teil extreme Zahlen, die ihre eigenen Befunde bei diabetischer Lipämie (einmal 33 % Lecithin) hinter sich ließen. Lipämiewerte (Gesamtextrakt) von 12,5 % (Imrie), von 23 % (B. Fischer), 15 % (Stadelmann) u. a. für Serum berechnet, seien genannt. Bei Alkoholismus und Fettsucht (Sakai, Speck) handelt es sich auch um pathologische Vorkommnisse.

Bloor, dem wir eine ganze Reihe fruchtbarer Untersuchungen methodologischer, deskriptiver (normal und pathologisch), experimenteller Natur verdanken, hat (1916) einen Ausschnitt seiner praktischen Befunde im Anschluß an eine literarische und kritische Erörterung des Lipämiekomplexes mitgeteilt. Er erwähnt die Lecithinbildung und -steigerung im Plasma unter alimentären Verhältnissen bei Fettaufnahme, bei Diabetes (wo es sich um „interessante Verhältnisse“ handelt), bei Nephritiden (wo sowohl erhöhte wie gesenkte Befunde auftreten), bei Leukämie (Plasma normal), bei Lues usw. (obige Literatur), bei Blutentziehung und ferner bei Anämie. Er nennt gesenkte Zahlen bei Kachexien. Fälle, die unserer Frage angehören, finden sich nicht, mit Ausnahme der dortigen Nr. 10 (Syphilis, Alkoholismus, s. unten). Die sehr beträchtlichen Unstimmigkeiten in der Literatur — besonders gilt das für die relativ und absolut niederen Werte — beruhen nach ihm mit Recht, wie Verfassers Beobachtungen von differenten Materialien lehren, auf äußeren Ursachen. Lecithin kann in Berührung mit Körperchen bei Aufbewahrung schneller und ergiebiger zersetzt werden als zu Zeiten angenommen wurde, ein Vorgang, für den die Versuche über Blutautolyse von Schippers Anhalt bieten. Auch ist ja die beschleunigende Mitbeteiligung der Lipoide bei autolytischen Vorgängen in tierischen und pflanzlichen Materialien mehrfach genügend belegt worden. Lecithin kann bei der Verarbeitung (Trocknung, Extraktion) partiell zerfallen. Diese Hinweise führen uns später in die Methodologie.

Zu den pathochemischen Komplikationen zählen nun auch solche, die der Herausbildung einer Lecithinämie entgegenwirken. Terroine, der besonders auf eine weitgehende individuelle Konstanz des Fettes hinwies, fand feste Relationen zum Cholesterin; Meyer und Schäffer

nannten eine solche zwischen Fettsäuren und Cholesterin, Freudenberg hatte auf ähnliche Verhältnisse hingewiesen. Die vielumstrittene Frage des Blutfettes bei Fasten wurde von Bloor auf Grund einer sehr guten Methodik (s. unten) neu aufgerollt. Schulz hat einen hohen Fettzuwachs in kurzer Frist, Daddi mehrfach dasselbe mit folgendem Abfalle gefunden; Lattes hatte das Interesse an den nicht reproduzierbaren Zahlen von Schulz zur Nachprüfung angeregt, die nur geringen (wenn überhaupt einen) Anstieg ergab. Freudenberg berücksichtigte den Ernährungszustand seiner Tiere als entscheidende Vorbedingung für eine Hungerlipämie.

Bloor, der die Frage überarbeitete, gab an, daß ein Fettzuwachs im Hungerserum in kurzer Frist eintreten könne oder auch nicht, wobei der Ernährungszustand allgemein maßgebend sei. Später folge ein Fettrückgang. Rosenfeld konnte Fettinfiltration nur bei fetten Tieren unter P-Wirkung erzielen. Beumer und Bürger widersprechen gleichfalls den Angaben von Seo und erklären die Fettdefizits bei Hungerstoffwechsel. Die Frage der alimentären Herabstimmung in der Kriegszeit, die zu den Inanitionsödemen führte, wurde von Feigl mit dem Fett- und Lipoidhaushalt, speziell dem Bestande im Serum zusammengebracht. Größere Reihenbeobachtungen taten die Verarmung dar, die in bezug auf Fett, Lecithin (Lipoid-P) in gewissen Zeiten auch der Überleitung auf Cholesterin (s. auch Denis) ganz erheblich werden konnte. Es gibt also Defiziterscheinungen in dem Fett-Lipoidkomplexe, und zwar (Verf.) darunter solche, die zunächst und ganz ersichtlich das Lecithin betreffen können, das als labiler Körper den ersten Angelpunkt bilden kann, und das den meisten Umwandlungen schnell folgt. Dafür zeugen Zahlen von infektiösen Zuständen mit Unterernährung, solche bei Fieber, bei Arbeitsüberlastung, bei Avitaminosen, bei Leberatrophie (Verf.). Für letztere beschrieben Feigl und Luce ein lipämisches Bild mit ganz charakteristischen Zügen, die zunächst in einer (relativen) Lecithinämie zu gipfeln schienen, dann extreme Senkungen des Lipoid-P zeigten, und die naturgemäß Anschluß suchen müssen an ikterische und cholämische (bes. maskierte) Lipämien (Bürger-Beumer). Der lipämische Komplex war dabei beherrscht von Fetten, Fettsäuren, Cholesterin; Lecithin war extrem geschwunden (Endbild); über cholämische Lipämien berichtet Verf. anschließend.

Wie man sieht, ist die Beurteilung der Verhältnisse, auf die sich die Beobachtung lipämischer Variationen beziehen soll, recht schwierig. Dem Pathologen treten dort viele Aufgaben entgegen, die abgegrenzt werden müssen. Sie sind mit der obigen Diskussion kaum genügend umschrieben, da

außerdem die alimentären Einflüsse sich modifizierend geltend machen können. So kann (nicht muß) Fettfütterung bei Anämie in gewissen Stadien zur Lipämie führen (Sakai), so kann zeitweilige Nahrungsbeschränkung Senkung oder Steigerung des Blutfettes bedingen. Zwar sind unsere Kenntnisse über die Schwankungen des Lecithins in den gedachten Kombinationen um vieles enger, aber doch wohl ausreichend. Auch hier muß die Nahrungskomponente (Magnus-Levy bei Diabetes, Reicher u. a., Lecithinbildung bei Fettzufuhr) eine große Rolle spielen. Stellt man sich nun auch auf den Standpunkt der Theorie von Destruktionen im Gehirn und im Zentralnervensystem, so sind doch sicher nicht zu selten Kreuzungen mit anderen Pathochemien möglich. Solche könnten wohl nach Klemperer, der die Lipoidämie der Diabetiker als Ausdruck vermehrter Aufbau- und Abbautätigkeit der Zellen, als Mobilisationserscheinung ansah, gelegentlich gedeutet werden. Außerdem kann aber Mangel an fermentchemischer Bewegung zur Blockierung im Blute führen (Sakai). Es kommt also alles auf die Kritik der Fälle an, sofern einmal die Methodik (s. unten) einigermaßen sichergestellt ist.

Da es sich beim Lecithin nun um einen ungemein reaktionsfähigen Stoff handelt, so müßte, wie folgt, weiter argumentiert werden. Entweder es findet tatsächlich kontinuierlich, vielleicht in Schüben ein Zustrom destruktiv entstandenen Lecithins aus dem Gehirn usw. ins Serum statt (eventuell nach Peritz aus sonstigen Organen), der mit den laufenden Fermentkräften nicht voll bewältigt wird, daher vorübergehend wirklich Schlacke ist. Oder das Lecithin ist sekundär gebunden und teilweise gegen Hydrolyse geschützt. Die erstere Möglichkeit scheint doch recht eng, da sich rein destruktiv solche Mengen kaum in Bewegung befinden können (s. unten), sofern nicht an Mitbeteiligung anderer Organe oder der Ernährung, eventuell einer Störung des intermediären Stoffwechsels gedacht wird. Die Theorie der Lecithinämie müßte daher den Gedanken aufnehmen, der bei Sakai zugrunde gelegt ist, nämlich eine Hemmung oder ein Fehlen lipämischer Kräfte. Das kann unter Umständen an Tieren (luetisch, anämisiert, Fettfütterung) geprüft werden. Unsere Versuche mußten leider abgebrochen werden (Mängel der Tierhaltung). Da eine Konstanz der Er-

scheinung allgemein und für den Verlauf des einzelnen Falles kaum anzunehmen sein dürfte (schubweiser Abbau), so müssen andere Erkenntnismittel herangezogen werden. Wir haben einmal die schematische Gleichmäßigkeit und Häufigkeit der Lecithinämie vermißt, ferner versucht, uns dem Destruktions- und Spaltungsvorgange unterlegenes Lipoid eventuell mittelbar doch noch zu veranschaulichen. Die allseitig, namentlich im Vergleich zu Bornstein, durchgearbeitete Auffassung von Peritz nimmt als wichtig die Lecithinausfuhr im Kote an, die für ihn den Beweis der „Verarmung" schlüssig macht. Die Kritik gehört in die Methodologie. Anders ließ sich arbeiten mit der P-Bilanz, oder besser mit dem Erscheinen und dem Nachweise von partiellen Spaltstücken. Was das Serum angeht, so hat Verf. das Vorkommen und die Verteilung des säurelöslichen Phosphors früher ergiebig studiert. Wir benannten eine Differenz, die der Fällungsreaktion der anorganischen Orthophosphate nicht zugänglich ist, als Restphosphor und bestimmten diese später in selbständigen Werten. Diese wurde erhöht befunden bei Avitaminosen, Leberatrophie, „chronischer Nephritis" usw. Sie ist sicher von vornherein komplexer Natur und führt einen Umkreis phosphorylierter Körper; damit kann sie sicher nicht in allen Fällen zu Schlüssen auf Spaltlinge des Lecithins — die Glycerophosphorsäure — in besonderer Form herangezogen werden und muß daher für gut charakterisierte Anlässe reserviert bzw. entsprechend abgewogen oder weiter ausgebildet werden. In einer früheren Mitteilung zeigten wir, daß der Rest-P häufig parallel mit verschiedenen Lecithinwerten, vorzüglich niedrigen, gesteigert vorkam. Der Rest-P wird uns in der Methodologie zu beschäftigen haben.

Anders liegt vielleicht die Sache, wenn man für die ursprüngliche Theorie der Erkenntnismittel die Cholesterinämie zur Unterstützung heranzieht.

Zwar ist für Cholesterin eine andere Möglichkeit, nach Graden seines Vorkommens, gegeben; ferner wird gelegentlich seine unveresterte Anwesenheit im Gehirn usw. hervorgehoben, so daß die Esterquote von Bedeutung sein kann, wennschon für ihr Entstehen (bei diabetischer Lipämie, Beumer und Bürger) u. U. die vorgängige Bildung freier Fettsäuren in reichlichem Angebot vorausgesetzt wird. Klemperer mißt der Cholesterinvermehrung in der Pathogenese der Lipämie eine große Bedeutung bei (Verf., Leberatrophie). Die älteren Beobachtungen

nehmen Fett: Cholesterin von 4:1 an, was meistens gewahrt bleibt. Sakai findet experimentell 16:1 usw. Abgesehen von der Gegenwertung der Methoden und den Relationen von Terroine, Meyer und Schäffer, Bloor würde also hiermit für unsere Fälle zu arbeiten sein. Da nun Lipämien ziemlich häufig mit Cholesterinämien höherer Grade verknüpft sind und da beide Erscheinungen zusammenhängen bzw. zeitlich verbunden sein können, ist die Frage nach dem Primären häufiger (Sakai, Wacker und Hueck) gestellt worden. Sakai verweist „auf die Cholesterinämie, die ohne Lipämie einhergehen könne", während „keine Lipämie ohne Cholesterinsteigerung bleibe". „Die pathologischen Lipämien seien durchweg gleichzeitig Cholesterinämien höheren Ausmaßes, ähnlich liege es auch bei der Mästungslipämie." „Fett halte Cholesterin in der Blutbahn zurück (Esterbildung, chemische Lösung, kolloidchemisches Verhalten)." „Das Cholesterin muß nicht immer aus den Geweben stammen." Bacmeister verwies bei echten Cholesterinämien „auf die regulierende Tätigkeit der Leber". Wichtig ist der Befund von Beumer und Bürger, daß eine diabetische Lipämie auch nach ihrem Schwinden Cholesterin in vermehrter Menge hinterließ. (Eigene Materialien folgen später.)

Wie man sieht, ist nach diesen und eventuell zu erweiternden Stimmen die Möglichkeit, mit Befunden über pathologische Cholesterinämien der Destruktionstheorie näherzukommen, keine allzu breite. Hauptsache bleibt auch unter diesem Gesichtspunkte die durchgehende Beschreibung des lipämischen Komplexes, wenn versucht werden sollte, das Cholesterin als Indikator für die fraglichen Vorgänge an Stelle des Lecithins zu setzen.

Besonders Roehmann und Pighini haben sich mit einer Theorie der Wa.-R. auf erhöhtes Cholesterin gegründet, beschäftigt. Bürger und Beumer, besonders Kauders, berichten in gewissen Einzelheitne entgegengesetzt. Klein und Dinkin schließen sich zum Teil an Befunde von Grigaut, Obakewitsch, Roehmann an, indem sie bei 8 (von 12) luetischen Patienten eine ausgesprochene Vermehrung des Cholesterins fanden; sie bestimmten gleichzeitig den Esteranteil relativ sinkend gegen die Norm. Die Cholesterinfrage kann hier nicht zum Selbstzweck gemacht werden. Unsere Befunde (s. unten) folgen in der Tabelle. Wir werden also auf die Relation Lecithin:Cholesterin Wert legen müssen.

Es bleiben uns nach den vorliegenden Erörterungen für die in Rede stehende Frage folgende Erkenntnismittel:

Untersuchung des lipämischen Komplexes (Fettsäuren, Fett, Lipoid-P bzw. Lecithin, Cholesterin mit Esteranteil) mit einer Methode, die die Einzelbefunde in einen Wurf vereinigt.

Benutzung der absoluten Zahlen zur Gewinnung bestimmter charakteristischer Relationen.

Untersuchung des säurelöslichen, anorganischen und restlichen Phosphors und der Beziehungen zu der Darstellbarkeit und den Graden der Lecithinämie.

Untersuchung der lipolytischen Qualitäten des Blutes nach obigen Beziehungen. (Die Erörterung von Sakai schlägt diesen Weg ein, da die Annahme von Herabsetzung der Oxydationen als Ursache lipämischer Erscheinungen für unbewiesen gelten muß.)

Untersuchung der „Lecithinausfuhr" im Kote und der „Phosphorverteilung" im Harn.

Heranziehung eines größeren und besser gesichteten Materials mit Grenzfällen.

Benutzung verbesserter Methoden und gesicherter Grundlagen. Nachprüfung der früher gewählten.

Gesicherte Normalien, Kritik der bisher gemachten Angaben.

Methodik.

Was nun die Methodik der vorliegenden Frage angeht, so kann ihre Bedeutung nicht hoch genug veranschlagt werden. U. E. erklären sich aus den analytischen Verhältnissen manche kontroversen Ansichten und Ergebnisse.

Kumagawa und Suto betonten bereits, daß relativ hohe Extraktzahlen für unreine, mit N-Stoffen belastete Produkte sprechen, daß dagegen die reinen an einer ganz ungenügenden Erschöpfung litten. Bogdanow äußert sich bei Überprüfung der Verhältnisse noch weit absprechender über die übliche Extraktion und verwirft Dormeyer, Liebermann, Rosenfeld, Glikin und Shimidzu (alt, 1897) zugunsten von Kumagawa und Suto. Shimidzu überarbeitete nochmals die Frage vom Standpunkte der Trocknungsvorgänge aus und belehrt uns an Hand zahlreicher Experimente über die sehr gewichtigen Fehlerquellen. Gephart und Csonka beschäftigten sich erneut mit der Methodik der direkten Verseifung, die wir der ersten Arbeit von Liebermann und v. Székely verdanken (auf deren Füßen Kumagawa-Suto stehen), und fanden im Anschluß an andere Stimmen in der Literatur manche Bedenken, die sich hauptsächlich auf die Unterbringung des Cholesterins in den gewonnenen Fraktionen beziehen. Ihre Vorschläge müßten völliger Billigung sicher sein, um so mehr, als sie die so oft benutzte Kumagawa-Bestimmung ins richtige Licht setzen. Die Extraktionsmethodik, ihre Mittel und Handhabung, ist oft Gegenstand der Besprechung auch in unserer Frage gewesen. Peritz, Beumer und Bürger, Klein und Dinkin haben zu ihr Stellung genommen

bzw. die älteren Tatsachen neu revidiert und entsprechende Ausbeuteversuche wiederholt. Klein und Dinkin arbeiteten mit der Kontrolle nach Authenrieth-Funk auf Cholesterin. Nun haben die erörterten Verhältnisse besonderen Einfluß da, wo mit Begriffen wie Rohfett, Fettsäuren, Fettgehalt (s. o.) gearbeitet wird. Solche Zahlen sind mit höchsten Bedenken umgeben. Da gerade der „Fettgehalt“, über den wir unten sprechen werden, das Kriterium der „Lecithinämie“ als isolierter spezifischer Erscheinung sein muß, sind hier Gegenprüfungen dringend nötig. Die grundsätzliche Notwendigkeit haben Peritz (nicht Bornstein), Kimura und Stepp, Klein und Dinkin sowie Beumer und Bürger vor Augen gehabt. Sie arbeiteten mehr oder minder vollkommen in der Methodik ihrer Zeit. Sigmund-Fraenkel und seine Mitarbeiter schufen dann Arbeitsweisen, die den präparativen Zielen dienten und die durchdacht und erfolgreich waren, jedoch vorwiegend dort, wo eine weitere chemische Aufarbeitung sich anschloß. In rein analytischen Verhältnissen ist auch auf diesen Wegen kaum prinzipiell Besseres erzielbar gewesen. Wir müssen uns also in der Fettanalyse nach derzeit vollkommenen bzw. praktisch zureichenden Verfahren richten, um so mehr, als mit den Gesamtfettsäuren (in denen der Lecithinfettsäureanteil und die in Esterbindung am Glycerin haftenden mit stecken) nicht weiterzukommen ist. Unser Ziel müssen die Restfettsäuren sein, die mit Lecithin und Cholesterin nicht verknüpft, entweder frei oder als Neutralfett vorliegen (s. u.). Die Extraktion trocknen oder verseiften Materiales umgeht Bloor in einer vom Verf. (F.) mehrfach beschriebenen und erfolgreich benutzten Arbeitsweise, die Enteiweißung und Heißextraktion des Koagulums (3 Alk. + 1 Äth.; 3 Teile Blut auf 100 Teile Lösungsmittel) erstrebt und innerhalb der Ausführungsform tatsächlich erreicht. Müller, der sich eingehend mit der Methodik beschäftigte, urteilt, daß die Verteilung praktisch zureichend sei. Bloors Werte für Gesamtfettsäuren entsprechen im ganzen den sonst in der Literatur besprochenen. Das Nähere ersehen wir weiter unten.

Wir bezweifeln die Stichhaltigkeit der Werte, die in der vorliegenden speziellen Frage für „Fett“ (u. dgl.) vorgebracht wurden, aus verschiedenen Gründen.

Was die Lecithinanalyse angeht, so müssen die allgemeinen Bedenken unvollständiger Extraktion der gesuchten Stoffe, die Mitaufnahme fremder Beimengungen und die sehr schwerwiegenden Möglichkeiten sekundärer Destruktion (s. o. Bloor) voranstehen. Die älteren Werte müssen als unbefriedigend gelten (Normalien usw.). Die Methodik soll im allgemeinen leisten die völlige Isolierung lipoidischen Phosphors unter Ausschluß fremder P Verbindungen. Sie hat sicher beides nicht immer erfüllt. Darlegungen hierüber sind erst jetzt möglich, nachdem die bis vor ganz kurzem geleugnete Anwesenheit von Phosphaten im Serum (Taylor und Müller) durch neue Forschungen beleuchtet wurde. Greenwald schuf den Begriff des säurelöslichen Phosphors im Gegensatz zum lipoiden Phosphor. Feigl bearbeitete die Frage umfassend

mit reichlichem Materiale und formulierte den restlichen Phosphor als summarischen Begriff für krystalloide Phosphoryle, die den Ionenreaktionen der Phosphorsäure direkt unzugänglich seien; er belegte sein Vorkommen in verschiedensten Richtungen, auch für die Frage von Hyperlipoidämien bei (angenommenen) Destruktionen im Gehirn und Zentralnervensystem.

Aus schematischen Zahlen der Norm (Feigl) kann man Einblick in diese Frage gewinnen. Z. B. würden 8,0 mg Lipoid P auf 4,0 mg säurelöslichen P treffen können (Nüchternwerte), welchen beiden der Weg in den Extrakt bei üblichen Methoden nicht verschlossen ist. Bei der nun folgenden Umrechnung zum Lecithin würde ein Fehler von 50% entstehen können. Wenn trotzdem die älteren Normalien für Lecithin niederer als die neueren sind (s. u.), so ist mit einer gegenseitigen Kreuzung zu rechnen. Daß Nichtlipoid-P durch gewöhnliche Extraktionstechnik, die der in unserer Frage erörterten nachgebildet ist, in die Rohlecithinfraktion eingehen kann, hat Verf. wiederholt unzweifelhaft festgestellt, u. a. mit Zuschlägen von Glycerophosphat zu Sulfatgemischen (Fraenkel), Alkoholfällungen (Shimidzu). Es sind also sicher häufig nichtphosphatide P-Körper mit zur Berechnung auf Lecithin herangezogen worden, ebenso sicher wie die Extraktion unvollständig war, und wie Destruktionen der gesuchten Stoffe statthatten. Bald nach der ersten Entdeckung von Greenwald über säurelöslichen Phosphor brachte Bloor seine mikrochemische Lecithinmethodik auf Grund der oben genannten Enteiweißung und Extraktion. Sie verfuhr zur Bestimmung weiterhin nephelometrisch und arbeitet nun (seit 1916) im Prinzip wie die Greenwaldsche (Feigl). Bloor diskutierte sofort (als Erster) die wichtige Frage der Mitaufnahme oder Fernhaltung von Nichtlipoid-P bei Isolierung der Serumphosphatidfraktion. Für Phosphate (säurelöslichen P) lehnte er eine Mitbeteiligung ab. Verf. findet das im ganzen zutreffend, jedoch haben Versuche (s. oben) die Möglichkeit von Ausnahmen bei hohem Rest-P dargetan. Verfs. (F.) Ergebnisse, die bisher vorgelegt wurden, sprechen im Prinzip für die Bloorsche Auffassung (Inanition, Leberatrophie u. a.) in dem Sinne, daß tatsächlich weit unter die Norm gesenktes Lecithin bei erheblich erhöhtem säurelöslichem P. vorkommen könne. Sonach ist aus diesen Abständen bereits zu schließen, daß beträchtliche Störungen selten sein müssen. Bei der Vieldeutigkeit der im Begriffe des Rest-P zusammengescharten Substanzen kann dagegen mit offenen Möglichkeiten gerechnet werden. Von Kimura und Stepp wie von Klein und Dinkin wurde versucht, die Lipoidfraktion aufzulösen. Der Gedanke hat Bestechendes an sich insofern, als an eine Gleichheit der Lipoidfraktion mit dem supponierten normalem Lecithin nicht zu denken, dagegen die Möglichkeit von Verschiedenheiten in der Mischung der Phosphatidfraktion vorauszusetzen erlaubt ist. Dabei mag gerade die Destruktion des Gehirns eigenartigen Komplikationen die Wege ebnen. Immerhin liegt diese Frage noch in weiterer Ferne; jedenfalls für heute, wo der Sammelbegriff nicht einmal geklärt ist, in zweiter Linie. Wenn wirklich der Lipoid-P erhöht gefunden sein sollte, und

seine pathogenetische Herleitung vom Zentralnervensystem oder einer bestimmten sonstigen Quelle erfolgt wäre, dann würde die Frage nach seiner Struktur hinsichtlich besonderer Phosphatide Interesse gewinnen. Für heute ist die Grundfrage zu lösen.

Da nach Bloor die Isolierung und Bestimmung von Lipoid-P gesichert ist, kann man, wenn die Umrechnung nicht beabsichtigt (bzw. gekünstelt) scheinen sollte, den P als solchen angeben, wie es von Greenwald vorgeschlagen und von Feigl durchgeführt wurde. Die rechnerische Verkettung des lipämischen Komplexes nach Bloor muß sich dem Zwange unterwerfen. Der Bestimmung nach Bloor tritt die Fällungsmethodik von Greenwald zur Seite, die in der Hand des Verfs. ausgezeichnete Dienste getan hat. Die Frage der Parallelität ist nicht genügend bearbeitet und wird uns nach früheren Hinweisen später beschäftigen. Verf. betont hier, daß das Verfahren die erstrebte Möglichkeit bietet, dem Fehler durch extrahierbaren Nichtlipoid-P auszuweichen. Es ist mit Sicherheit prompter und einfacher als die Extraktionsmethodik, bietet aber — die isolierte Verfolgung des Lipoid-P.

Die von Feigl in breiteren Materialien methodisch und statistisch nachgeprüften Angaben über Lipoid-P bzw. Lecithin im Serum von Bloor und Greenwald stimmen untereinander und im übrigen gut überein (s. unter Normalien). Die Werte sind nicht unbeträchtlich höher als die älteren (Bloor). Sie sind auch konstanter und der kritischen Benutzung in der Pathochemie fähiger. Sie sind von Bedeutung für die Frage der Gesamtfettsäuren und ihrer Verteilung auf heterologe Bindungen bzw. auf Neutralfett. In diesem Sinne ist die Aufgabe der Ermittlung genauer Werte dringend. Ferner ist die Berechnung von Relationen auf genaue Einzeldaten angewiesen.

In betreff der Analyse von Cholesterin, seiner Verteilung und Bindungsverhältnisse, wäre das Folgende zu sagen. Die Methodik von Bloor, fußend auf der oben geschilderten Extraktion und auf einer Bestimmung nach Liebermann-Burchard ist Gegenstand verschiedener Kontroversen gewesen (Weston, Müller u. a.). Ihre Werte überschreiten den sonst ermittelten um rund 20%; (der gemeine Durchschnitt liegt um 0,17%). Sie vermeidet die energische Hydrolyse (Authenrieth, Funk), der Bloor und Müller teilweise Zerstörung nachsagen. Kontrovers ist gleichfalls die Rolle des Oxycholesterins (Lifschütz, Schreiber) hinsichtlich des Liebermann-Burchard und der Digitoninbindung. Müller, der die hypothetische Cholesterase von Roehmann und Citronberg bei Autolyseversuchen ablehnte, sagt der Colorimetrie an sich (durch äther- bzw. chloroformlösliche Stoffe anderer Art) höhere Werte nach. Wir gehen nicht ins einzelne, da uns die Frage der physiologischen und pathologischen Cholesterinämie methodisch und statistisch a. a. O. beschäftigen wird, betonen aber die Notwendigkeit der Kritik von Cholesterinanalysen. Wir brauchen die nach dem Vorgange von Bloor und Knudsen (zwei Mitteilungen, 1916, 1917), mikroanalytisch durch Digitoninfällung zugängliche Ermittlung des freien

Anteiles, um aus dem veresterten nach Bloor den Bedarf an Fettsäuren rechnerisch überschlagen und im Begriffe der Gesamtfettsäuren festlegen zu können. Zu diesem Zwecke ist die Technik von Bloor der beste, wo nicht einzig gangbare Weg. Übrigens hat auch Denis das Verfahren angenommen und in großem Stile benutzt, um Schlüsse über die Abartungen der Cholesterinämie zu formulieren. Ferner ist die Frage der Cholesterinverteilung (der Esterquote, der Erhöhung) für unser Gebiet nach vorgängigen Arbeiten an sich von gewisser Bedeutung. Sie gehört zur ausreichenden Beschreibung des lipämischen Komplexes, insonderheit zur Aufklärung der Fraktion des Neutralfettes (Restfettsäuren).

Normalien.

Bloor hat (1916) ziemlich zahlreiche Analysen mit seinen Methoden gemacht, um die Verhältnisse der Norm zu umschreiben. Diesen fügte Feigl breitere Erfahrungen bei. Für 100 ccm Plasma. Gesamtfettsäuren: 0,47 g bzw. 0,30 g, Durchschnitt 0,39 (Bloor); 0,45 bzw. 0,25 bzw. 0,35 (Feigl); inzwischen haben wir auch 0,50 g beobachtet und den Durchschnitt auf 0,38 hinaufsetzen können.

Neutralfett: 0,20 g bzw. 0,04 g, Durchschnitt 0,11 g (♂) 0,16 g (♀) (Bloor); 0,20 g, Durchschnitt 0,10 g bis 0,12 g (Feigl). Abweichungen zwischen Männern und Frauen kommen vor (s. u.).

Lecithin: 0,26 g bzw. 0,17 g, Durchschnitt 0,20 g (Bloor); 0,30 g (hoch) Durchschnitt 0,22 bis 0,20 (Feigl). Auch hier finden sich Abweichungen des Geschlechtes (s. u.).

Cholesterin: 0,31 g bzw. 0,19 g, Durchschnitt 0,23 g (Bloor). Ältere Erfahrungen (Feigl) neigen dazu, diese Zahlen zu hoch zu nennen. Inzwischen haben wir sehr selten solche von 0,300 g gesehen. Durchschnitt 0,200 g bis 0,220 g. Über den Esteranteil berichten wir wie folgt.

Die Zahlen sind Nüchternwerte. Abweichungen der Geschlechter werden sich m. E. aus unvollständiger Statistik erklären lassen. Bloor scheint an Hand seiner Zahlen solche Abweichungen aufrecht zu halten. Die Esterwerte der Norm sind für Plasma mit 66% des Gesamtcholesterins angenommen (Bloor 1916). Verf., dem seinerzeit (1918, l. c.) ein falsches Zitat unterlief, fand Esterzahlen zwischen 30% und 50%, wobei die derzeitigen Ernährungsverhältnisse mitgespielt haben dürften. Inzwischen fanden wir weitere Normalien höher. 1917 berichteten Bloor und Knudsen, daß sie für Plasma im Mittel 58% Estercholesterin mit Variationsbreiten von 15% nach unten wie

nach oben gesehen hätten, womit wir übereinstimmen. Die Relationen sind folgende:

Lecithin zu Cholesterin im Plasma beträgt zwischen 0,96 und 0,82 im Durchschnitt, im Extrem 1,26 bis 0,75 (Bloor). Niedrigere Grundzahlen u. dgl. Durchschnitt (Feigl).

Gesamtfettsäuren zu Lecithin 2,70 bis 1,4; Mittel 1,7 bis 2,0 (Bloor), 1,70 bis 1,90 (Feigl).

Die Abweichungen fallen am größten aus auf seiten der Gesamtfettsäuren, am niedrigsten auf seiten des Lecithins — vom großen Mittel der Norm — bei Gesunden. Über die von uns Restfettsäuren genannten Beträge diskutiert Bloor im Anschlusse an Klemperers Auffassung. Dieser Teil der Frage ist mit der schwierigste, aber wichtigste.

Der komplexen Summe — Gesamtätherextrakt — messen wir nur mittelbare Bedeutung bei. 0,82 g bis 0,57 g, Durchschnitt 0,67 (♂), 0,72 (♀) (Bloor); 0,85 g bis 0,55 g, Durchschnitt 0,72 g (Feigl).

An Hand obiger Zahlenwerte zu den Normalien des lipämischen Komplexes im Serum treten wir nunmehr an die Durchsicht und Beurteilung unseres Untersuchungsmaterials heran.

Tabellen und Befunde.

Die Normalien wurden summarisch mitgeteilt; sie sind in Kürze kritisch beleuchtet. Das Untersuchungsmaterial unterlag einer gewissen Auswahl nach oben erörterten Gesichtspunkten, die anderweitige pathochemische Umstimmung des Lipämiekomplexes, welche die Beurteilung der Frage stören könnte, nach Möglichkeit ausschließen sollten. Es wurde auf Hyperglykämie und Glucosurie, auf Cholämie, auf Inanition, Kachexie und belanglichere Abweichungen des Blutbildes, auf Nieren, Leber und Herzstörungen geachtet. Das Material umschließt im weiteren Umkreise die Norm, ohne sich beträchtlich von ihr — nach den entsprechenden Methoden — zu entfernen. Entscheidende Medikationen wurden als störende Faktoren angesehen. Die Zahlen sind Nüchternwerte, bezogen auf ziemlich gleichförmige, ausreichende bis mäßig reichliche Ernährung ohne markante Wechsel und Sprünge. Für Bewegung usw. gilt ein Gleiches. Cholämien sind ausgeschlossen.

In der Tabelle wird genannt: Gesamtfettsäuren (A), Fettsäuren in Lecithinbindung (B), Fettsäuren im Esteranteile des Cholesterins (C) und Restfettsäuren (D). Diese letzteren würden

nach Bloor, vermehrt um $^{1}/_{20}$, das Neutralfett ergeben. Ferner ist Lecithin (berechnet) und Cholesterin (gesamt) aufgeführt. Dieses wird durch die Rubrik „Esteranteil in Prozenten des Gesamtcholesterins" näher erläutert. Es folgen die Relationen Lecithin zu Cholesterin (I) und Gesamtfettsäure zu Lecithin (II), endlich der Gesamtätherextrakt. Nicht mit aufgenommen sind die Werte des säurelöslichen, anorganischen, restlichen Phosphors. In Hinsicht auf diese muß die kurz vorhergehende Mitteilung über Phosphate (und Rest-P) VI genannt werden. Die Frage wird in einer ferneren (VII) Mitteilung berührt werden anläßlich der Aufgabe des (direkten) Vergleiches zwischen der Extraktionstechnik (Bloor) und der Fällungs- und Enteiweißungsmethodik (Greenwald), der mit der Fraktion des Rest-P in Zusammenhang gebracht werden wird. Die Frage der W.-R. bleibt offen.

Zur Erläuterung der Tabelle sei nach Bloor der Komplex rechnerisch beschrieben.

Gesamtfett (Gesamtfettsäuren + Cholesterin), Lipoid-P, Cholesterin (gesamt) und Cholesterin (frei) werden bestimmt. Phosphorsäure $\times$ 8 = Lecithin. Lecithin $\times$ 0,7 = Fettsäuren (des Lecithins). Cholesterin (von 66 % verestert) $\times$ 0,48 = Fettsäuren des Cholesterins (andere Prozente entsprechend). Wird von Gesamtfett das Cholesterin abgezogen, so erscheinen die Gesamtfettsäuren, denen die Fettsäuren des Lecithins wie das Cholesterins entnommen werden. Es hinterbleibt ein Rest von Fettsäuren, der $\times$ 1,05 zu Neutralfett berechnet werden kann. Lecithin wird als Oleo-Stearylkörper eingesetzt. Gesamtätherextrakt ist eine Summe aus Fett (Neutralfett), Lecithin, Cholesterin (frei Ester).

Über Fehlergrenzen usw. s. Bloor. Die meisten Rechnungen sind nachträglich abgerundet.

Die Tabelle enthält 47 Fälle von Paralyse, Tabes, Taboparalyse.

Über die Anordnung ist zu sagen, daß sie nach Lecithinzahlen orientiert ist.

Befunde.

Nimmt man als obere Grenze des gesunden, nüchternen Menschen (s. Normalien) rund 300,0 mg für 100 ccm Plasma an und rechnet eine gewisse Fehlerbreite (nach analytischen usw. Möglichkeiten) von rund 10 %, was m. E. doch geschehen sollte und auch geschehen darf (s. später), mit, so haben wir 24 Fälle (von 47 insgesamt; d. i. 51 %) mit normalem Lecithingehalt. 21 Fälle erreichen die Schwelle von 300,0 mg, ausgedehnt über

Tabelle I.

Fette und Lipoide im Blute bei Geisteskrankheiten (Tb., Paral. Tb.-Paral.).

(Material zur Kritik der Lecithinämie nach Bornstein-Peritz.)
Cholesterin (gesamt und Esterquote), Lecithin, Verteilung und Summe der Fettsäuren. Gesamtätherextrakt. Methoden von W. R. Bloor.
Zahlen in mg für 100 ccm Plasma.

Laufende Nummer	Verteilung d. Fettsäuren im Blutplasma				Lecithin (ber. aus Lipoid-P)	Cholesterin		Gesamtätherextrakt	Lecithin zu Cholesterin (Quotient)	Cholesterin in Proz. des Gesamtätherlösl.	Lecithin in Proz. des Gesamtätherlösl.
	Gesamtfettsäuren A	Fettsäuren im Lecithin B	Fettsäuren im Esteranteil d. Cholesterins C	Restfettsäuren (zur Berechnung des Neutralfetts) D		Gesamt	Esteranteil in Prozenten des Ges.-Cholest.				
1	330,0	125,0	100,0	105,0	180,0	200,0	70,0	590,0	0,9	36,0	30,5
2	320,0	125,0	125,0	70,0	180,0	260,0	66,0	570,0	0,7	46,0	31,5
3	345,0	130.0	95,0	120,0	190,0	280,0	45,0	790,0	0,6	26,0	20,4
4	380,0	140,0	105,0	135,0	200,0	180,0	75,0	630,0	1,1	29,0	31,5
5	380,0	140,0	120,0	120,0	200,0	250,0	66,0	695,0	0,8	38,0	28,8
6	320,0	145,0	105,0	70,0	210,0	210,0	70,0	600,0	1,0	36,0	35,0
7	385,0	155,0	150,0	80,0	220,0	270,0	75,0	725,0	0,8	38,0	30,5
8	380,0	165,0	65,0	150,0	230,0	180,0	50,0	620,0	1,2	30,0	37,0
9	415,0	170,0	105,0	140,0	240,0	220,0	66,0	710,0	1,0	31,0	33,8
10	430,0	170,0	100,0	160,0	240,0	300,0	45,0	810,0	0,8	37,0	29,6
11	445,0	175,0	70,0	200,0	250,0	310,0	30,0	990,0	0,8	32,0	25,5
12	375,0	180,0	120,0	75,0	260,0	360,0	45,0	820,0	0,7	44,0	31,5
13	520,0	180,0	140,0	200,0	260,0	230,0	80,0	840,0	1,1	28,0	30,9
14	420,0	190,0	90,0	140,0	270,0	180,0	70,0	610,0	1,5	30,0	44,5
15	400,0	180,0	120,0	90,0	270,0	220,0	76,0	705,0	1,2	31,0	38,5
16	350,0	195,0	85,0	70,0	280,0	380,0	30,0	820,0	0,7	47,0	34,0
17	375,0	195,0	60,0	120,0	280,0	410,0	20,0	875,0	0,6	47,0	32,0
18	415,0	205,0	70,0	140,0	290,0	210,0	45,0	695,0	1,3	30,0	41,5
19	425,0	205,0	100,0	120,0	290,0	300,0	45,0	820,0	0,9	37,0	35,5
20	475,0	210,0	65,0	200,0	300,0	420,0	20,0	985,0	0,7	42,0	30,5
21	545,0	210,0	125,0	210,0	300,0	460,0	36,0	1100,0	0,6	41,0	27,5
22	450,0	215,0	65,0	170,0	310,0	210,0	40,0	765,0	1,4	28,0	40,5
23	485,0	230,0	135,0	120,0	330,0	270,0	70,0	860,0	1,2	40,0	31,0
24	635,0	230,0	185,0	220,0	330,0	310,0	80,0	1050,0	1,0	32,0	30,0
25	450,0	235,0	105,0	110,0	340,0	180,0	75,0	740,0	1,8	46,0	25,0
26	435,0	240,0	115,0	80,0	340,0	200,0	75,0	740,0	1,7	46,0	27,0
27	515,0	260,0	135,0	120,0	370,0	230,0	70,0	860,0	1,6	43,0	30,0
28	485,0	260,0	85,0	140,0	370,0	280,0	66,0	880,0	1,3	42,0	32,0
29	545,0	265,0	110,0	170,0	380,0	330,0	45,0	1000,0	1,1	38,0	33,0
30	430,0	265,0	75,0	90,0	380,0	480,0	20,0	1030,0	0,7	37,0	47,0
31	545,0	280,0	85,0	180,0	400,0	320,0	36,0	915,0	1,2	44,0	35,0
32	630,0	280,0	130,0	220 0	400,0	270,0	66,0	1030,0	1,4	40,0	26,0
33	585,0	295,0	120,0	170,0	420,0	210,0	77,0	930,0	2,0	45,0	23,0
34	615,0	295,0	90,0	230,0	420,0	610,0	20,0	1360,0	0,5	30,0	45,0
35	705,0	305,0	140,0	260,0	435,0	280,0	66,0	1130,0	1,5	39,0	25,0
36	795,0	315,0	180,0	200,0	450,0	380,0	60,0	1220,0	1,1	38,0	31,0
37	610,0	330,0	100,0	180,0	470,0	380,0	36,0	1140,0	1,2	41,0	33,0
38	695,0	335,0	120,0	240,0	480,0	210,0	75,0	1060,0	2,2	46,0	20,0

Tabelle I (Fortsetzung).

Laufende Nummer	Verteilung d. Fettsäuren im Blutplasma				Lecithin (ber. aus Lipoid-P)	Cholesterin		Gesamtätherextrakt	Lecithin zu Cholesterin (Quotient)	Cholesterin in Proz. des Gesamtätherlösl.	Lecithin in Proz. des Gesamtätherlösl.
	Gesamtfettsäuren A	Fettsäuren im Lecithin B	Fettsäuren im Esteranteil d. Cholesterins C	Restfettsäuren (zur Berechnung des Neutralfetts) D		Gesamt	Esteranteil in Prozenten des Ges.-Cholest.				
39	675,0	345,0	160,0	170,0	490,0	270,0	80,0	1100,0	1,8	45,0	40,0
40	695,0	350,0	65,0	280,0	500,0	430,0	20,0	1220,0	1,1	41,0	35,0
41	655,0	350,0	50,0	250,0	500,0	640,0	12,0	1450,0	0,7	39,5	49,0
42	635,0	365,0	50,0	220,0	520,0	340,0	75,0	1140,0	1,5	46,0	23,0
43	615,0	380,0	60,0	170,0	540,0	230,0	36,0	1010,0	2,3	54,0	23,0
44	720,0	390,0	130,0	200,0	560,0	180,0	80,0	1080,0	3,1	52,0	17,0
45	785,0	405,0	150,0	170,0	580,0	270,0	75,0	1180,0	2,1	49,0	23,0
46	875,0	405,0	230,0	230,0	580,0	410,0	75,0	1950,0	1,4	30,0	21,0
47	1000,0	420,0	260,0	320,0	600,0	460,0	75,0	1650,0	1,3	37,0	29,0

den Bereich von 180,0 mg an. Über 330,0 mg liegen 23 Fälle (49 % der Gesamtzahl) davon bis 400,0 mg 6, von 400,0 mg bis 500,0 mg 9; 8 von 500,0 mg bis 600,0 mg. Es kommen also Hyperlecithinämien in rund 50 % aller zur Untersuchung gestellten Fälle vor. Die übrigen Beobachtungen ergeben Normalzahlen, alle Fälle sind Wa R +.

Über die Grade der beobachteten Lecithinämien belehrt uns die Gesamttabelle gegenüber den Normalien. Unsere Maximalzahl ist der Doppelwert der obersten Norm (rund) und der (rund) verdreifachte mittlere Durchschnitt. Wir haben, vielleicht tragen die Verhältnisse der Jetztzeit schuld — berücksichtigt jedoch bei Auswahl, auch kommt ja die klinische Beobachtung in Frage! — die Extreme von Peritz bisher nicht gesehen, sammeln indes aus methodologischen Gründen (s. oben) weiter.

Verfolgen wir die Restfettsäuren (D), so finden wir nach den Normalien (umrechnen $+ {}^{1}/_{20}$) folgende leicht usw. erhöhten Zahlen. Fall 11 (210,0 mg), Fall 13 (210,0 mg), Fall 20 (210,0 mg), Fall 21 (220,0 mg), Fall 24 (230,0 mg), Fall 32 (230,0 mg), Fall 34 (240,0 mg), Fall 35 (275,0 mg), Fall 36 (210 mg), Fall 38 (252,0 mg), Fall 40 (295,0 mg), Fall 47 (262,0 mg), Fall 52 (230,0 mg), Fall 54 (210,0 mg), Fall 56 (240,0 mg), Fall 47 (336,0 mg). Schließt man nun die Beträge von 210,0 mg (aus methodischen Rücksichten)

aus, so bleibt rund 1 Fall (24) mit 230,0 mg (leicht übernormal) an der obersten Grenze normaler Lecithinämie. Dagegen liegen 9 Fälle mit mehr oder minder hinaufgesetztem Neutralfett in dem Bereiche gesteigerter Lecithinzahlen. Von diesen wird man allenfalls 5 (über 250,0 mg) als beträchtlicher im Gehalte an Neutralfett gesteigert ansehen dürfen. Wie dem auch sei, verlegt man die immerhin in gewissem Sinne willkürlichen Schranken der obersten Norm um ein Weniges, so bleibt doch die in der Tabelle genugsam ersichtliche Tatsache bestehen, daß steigende Lecithinwerte mit steigenden Restfettsäuren (bzw. Neutralfett) einhergehen können. Die Gesamtheit der Fälle belegt dies auch insofern, als durchschnittliches und niedrig normales Neutralfett sich bei niederem Lecithin findet. An dieser Stelle ist zweierlei zu bemerken. Einmal ist die Berechnung als Neutralfett ein Schema, das der Frage ev. freier Fettsäuren (s. oben Literatur) nicht gerecht wird. Diese Aufgabe ist z. Z. mit der Mikrochemie nicht lösbar. Doch ist nach Javal und Boyet die Verbreitung freier Fettsäuren in verwandten Verhältnissen nicht auszuschließen, weshalb hier entsprechend argumentiert werden darf. Ferner könnte man versucht sein, niederes Lecithin mit höheren Mengen freier Fettsäuren verknüpft zu erwarten, insofern als die Lecitholyse letztere schubweise entladet. Auch die Anschauung und Beweisführung nach Sakai könnte hier zu Recht berücksichtigt werden. Fragen dieser Art kann keine rohe Statistik beantworten; in solcher Hinsicht gehen wir auf die Besprechung von Reihenuntersuchungen an einzelnen Fällen zurück.

Wie stehen nun Fett und Lecithin zueinander? Es ist sicher, daß die Restfettsäuren (mit ihnen vermutlich das Neutralfett) mit steigendem Lecithin in größeren Reihen sich häufig genug über die Schranke der Norm erheben. Diese Erhebung bleibt hinter dem Zuwachs der Lecithinämie weit zurück, sowohl in der Häufigkeit des Vorkommens, wie in den Graden der Anstiege.

Wahrscheinlich spielen also, wie man einstweilen annehmen darf, bei der Lecithinämie der Geisteskranken zu Zeiten trotz des Fehlens sonstiger, äußerer Kriterien allgemeine „lipämische Tendenzen“ mit. Vielleicht ist das Neutralfett (die Restfettsäuren) ein Begleiter von der Gehirndestruktion her.

Durchmustern wir nun die Ergebnisse der Cholesterinuntersuchungen, so ersehen wir (unter Beurteilung der Normalien), daß 15 Fälle von 47 insgesamt (rund 32 %) erhöhte Zahlen bringen. Über die Grade der Cholesterinämien sei gesagt, daß erhöhte Beträge unter 400,0 mg 6 mal, von 400,0 mg bis 500,0 mg 7 mal, solche über 500,0 mg 2 mal vorkommen. Mit „normalem" Lecithin vereinigt, kommen die erhöhten Cholesterinwerte 5 mal vor, mit gesteigertem 10 mal; die höchsten Zahlen paaren sich mit extremem Lecithin.

Cholesterinämien kommen in rund 33 % der Beobachtungen vor; sie sind, weit überwiegend, als Parallelerscheinungen der Lecithinämie anzutreffen. Im einzelnen bestehen nach Graden und Höhen kaum strikte Beziehungen zwischen beiden Lipoiden.

Genaueren Einblick gewährt die Differentialanalyse des Cholesterins. Läßt man nach obigen Erörterungen über Befunde von Bloor und vom Verf. gewisse Fehlergrenzen zu, so konnte man innerhalb der Norm sowohl 70 % veresterten Cholesterins gelten lassen wie allenfalls 45 %. An diesem Maßstabe gemessen, ergeben sich abweichende Befunde — zusammengezogen nach oben wie nach unten — insgesamt in 28 von 47 Fällen (rund 60 %). Von diesen sind als erhöhtes Estercholesterin anzusehen 15 (rund 32 % der Gesamtzahl) als abgesenktes 13 (rund 28 % der Gesamtzahl aller Beobachtungen). Unwesentlich gesteigert sind mit 75 % bis 77 % 11 Fälle, erheblich (80 %) 4 Fälle, mäßig gesenkt sind mit Zahlen von 40 % bis 30 % 7 Fälle, erheblich solche mit geringeren Werten bis hinab zu 12 % (einmal vertreten). 20 % ist 5 mal vertreten.

Ohne in die Frage der Cholesterinämie, die Verf. (unter Mitarbeit von Neumann) spezialistisch im Zusammenhange darstellen wird, weiter einzudringen, als es die Aufgabe mit sich bringt, sei noch folgendes erörtert. Diese Prozentzahlen für die Struktur der Gesamtgröße an Esterprodukt kamen erst zu Gewicht da, wo an sich Hypercholesterinämien Tatsache sind. Daß jedenfalls aus dem mehrdeutigen Komplex von Erscheinungen, die sich in Umstimmungen des Cholesterinspiegels dokumentieren können, hier maßgebende (wahrscheinlich speziell pathochemische) Faktoren am Werke sind, lehrt uns die Inkonstanz der Esterquote in den Reihen, die normales

Lecithin führen. Hier finden sich Erhöhungen auf 75% und 80% an Ester mehrfach, Senkungen auf 20% und 30% desgl. (Tab.). Die größten Ausschläge (nach Zahl des Vorkommens und Abwegigkeit) liegen in den hyperlecithinämischen Werten, wie die Parallelstellung wiedergeben kann. Betrachtet man nun das Cholesterin als Träger von Einflüssen, die sich an den Erscheinungen des Fettsäurebestandes — meßbar ehestens an den „Gesamtsäuren" zeigen und in diesen zu Wort kommen, so ersieht man auffällige Tatsachen. Abgesehen davon, daß uns unser Material nicht berechtigt, von einer Hypercholesterinämie bei Tabes und Paralyse zu reden, die durch Zustrom (oder äußerlich durch Zuwachs) von freiem Cholesterin zum normalen Spiegel zustande kommt, haben wir ein keineswegs einheitliches Bild vor uns. Die gewollte Lehre von destruktiv entstandenem, frei hinzugeflossenem Cholesterin ist kaum mehr haltbar, es sei denn, daß man an andere Begleiterscheinungen dächte und sich Angebot von Fettsäuren vorstellte (Beumer und Bürger), das sich zur Esterbildung in Gestalt sekundärer Umwandlungen verfügbar machte. Für diese Meinung kann u. U. vielleicht die sonstige Natur des lipämischen Komplexes (hohe Restfettsäuren bzw. Neutralfett) mit als Verknüpfung herangezogen werden; Erhöhungen an nicht im Lecithin bzw. Cholesterin steckenden Fettsäuren sind belegt. Gesteigertes (Gesamt-)Cholesterin kommt in Gestalt von Komplexen vor, die nur $^1/_8$ und $^1/_5$ Esterverbindung enthalten, daher der älteren Auffassung entsprechen. Dies Verhalten ist relativ selten. $^3/_4$, weit enger $^4/_5$, Esterbeimengung sind wohl verbreiteter. So stehen in 640,0 mg der Gesamtgröße einmal 12% Ester, in 475,0 mg einmal 75% dgl. usw. Beide Relationen treffen (auf relativ hohe einerseits, auf relativ niedere andererseits) Gehalte an Restfettsäuren (Neutralfett). Die Beträge an diesen sind somit ohne weiteres nicht als Verkettungen für die Deutung der hohen Esterquoten heranzuziehen. Betrachtet man nun das Gesamtcholesterin bzw. dessen veresterten Anteil als Träger für Fettsäureradikale, die im lipämischen Blutbilde auftreten (in den „Gesamtfettsäuren", im „Gesamtfett" und im „Gesamtätherextrakt"), so ersieht man den Einfluß auf Größe und Gestalt der gesamten Komplexbegriffe. Aus diesen kann für die vorliegende Frage — um

so mehr, als die Fettsäuren des Lecithins, ihrerseits naturgemäß gesteigert, mit hinzutreten — ein förderlicher Maßstab zur differenzierenden Betrachtung daher kaum entnommen werden. Dieser muß auf die noch freien (restlichen) Fettsäuren bezogen werden (s. oben). Zur Erläuterung der Verhältnisse ist die Verteilung der Fettsäuren (in Abrundung aller Werte) mit aufgenommen werden. Wie aus der Tabelle ohne weiteres ersichtlich, zeigt der Begriff der Gesamtfettsäuren gegen die Norm häufige und erhebliche Variationen nach oben, die durch Lecithin und Cholesterinester erklärt sind. Erhöhte Zahlen für diese Fraktion sind also von der „Lecithinämie“ und Cholesterinämie untrennbar.

Wird nun rechnerisch (in Abrundung) der Gesamtätherextrakt formuliert, so erhalten wir die aufgeführten Zahlen, unter denen aus gleichen Gründen übernormale Größen vorkommen müssen, welch letztere den ausgesprochenen allgemeinen Lipämien (z. B. bei Diabetes) naherücken können. Erhöhtes „Lecithin“ muß zu gesteigertem Ätherextrakt führen, besonders wenn gleichzeitig die Cholesterinfraktion sich in übernormalen Beträgen beteiligt. Er ist 25 mal erhöht, bis hinauf zu 1,9 g (1 mal) und 1,6 g (1 mal).

Bedeutung gewinnen die Relationen unter den Einzelfraktionen. Verfolgen wir zunächst die Lecithin-Cholesterinquotienten (nach der Annahme von Bloor), so ersehen wir aus der Tabelle die im einzelnen auftretenden Abweichungen gegen die Norm. Diese Aufstellung besagt indes nur wenig für die Rolle des Lecithins im lipämischen Komplex, an der uns aus Gründen der Kritik älterer Arbeiten gelegen sein muß. Sie zeigt aber, wie weit gegeneinander Cholesterin und Lecithin in ihrem außernormalen Auftreten ihrerseits schwanken können. Es sei auf folgende Extreme hingewiesen: 0,6 (2 mal), 0,5 (1 mal) mit relativ hohem Cholesterin, 3,1 (1 mal) 2,3 2,2, 2,1, 2,5 (je 1 mal) mit erheblich überwiegendem Lecithin, z. B. 560,0 mg Lec. gegen 180,0 mg Ges.-Chol. Was die Beziehung Gesamtfettsäuren zu Lecithin (Bloor) angeht, so seien außerhalb der Tabelle folgende, der Norm fremde Extreme genannt: 615,0 gegen 540,0 = rund 0,9 bzw. 430,0 gegen 380,0 = rund 0,84 (relativ hohes Lecithin) bezüglich sonst im allgemeinen normaler Gestaltung.

Gehen wir endlich auf die Struktur des Gesamtätherextraktes ein und halten uns an die eigentliche Aufgabe, so erzielt die Tabelle prozentische Lecithingehalte bis zu den Extremen von rund 50%. Rechnet man nach Bloors Normalien, schematisch in Extremen gekreuzt, so kommen für die Norm Grenzen von 20% und 45% vor. Das große Mittel liegt um 28%; höhere Zahlen als 35% sind geradezu selten zu nennen. (Verf.) Betrachtet man die Bornstein-Peritzsche „Lecithinämie bei Geisteskrankheiten“ unter diesem Gesichtswinkel, so läßt sich tatsächlich in rund 35% der Beobachtungen von einseitiger Orientierung des Lipämiekomplexes nach der Lecithinseite hin reden. Immerhin sind unsere Fälle keine Grenzfälle aus dem einschlägigen Gebiete. Solche werden wir, verglichen mit weiteren „spezifischen Lipämien“, später aufführen. Zudem greift die Cholesterinämie mit häufig hohen Esterwerten ein, die dahin wirken, daß der gesteigerte Gesamtrückstand die Lecithinprozente drückt. Von den Extremen unserer Reihe sei auf folgende verwiesen. Ges.-Extrakt 1010,0 mg mit 540,0 mg Lec. und 230,0 mg Ges.-Chol. (36% Ester = 60,0 mg Säure) bezüglich 740,0 mg mit 340,0 mg bzw. 180,0 mg (75% = 105 mg Säure) bzw. 1080,0 mg mit 500,0 mg bzw. 180 mg (80% = 130,0 mg) Säure aber 1950,0 mg mit 580,0 mg Lec. und 410 mg Chol. (75% Ester = 230 mg Fettsäuren).

Die Literatur (Javal und Boyet s. oben) verzeichnet Lecithinprozente bis hinauf zu 73. Zum Vergleich sei auf Lipämien mit tiefem Lecithinquotienten verwiesen. Aus einer größeren Reihe über Cholämie usw. wird zunächst die bereits mitgeteilte Lipämie bei akuter gelber Leberatrophie zu nennen sein. Weiteres Material folgt später.

Nunmehr kann nach obigen Erörterungen die Gegenüberstellung von Restfettsäuren und Lecithin rätlich sein. Wir erwähnen nochmals einschränkend, daß ein Zwang, die ersteren als Neutralfett auszurechnen, kaum anerkannt sein kann, wie Befunde von Javal und Boyet sowie vom Verf. zeigen. Bei der Kompliziertheit des Gesamtextraktes und der Gesamtfettsäuren, an denen, wie erörtert, Cholesterinester teilhaben, wird die Restfraktion guten Einblick gewähren. Überschlägt man nach Bloors Normalien schematisch nach Extremen die Verhältnisse, so überwiegt Lecithin an sich das Neutralfett. 260,0 mg

Lecithin können dabei sich auf 50,0 mg Neutralfett stoßen, andererseits und beziehentlich 170,0 mg auf 200,0 mg (für 100 ccm Plasma), das große Mittel schließt sich um 200,0 mg bzw. 160,0 mg. Neutralfett kann zum Lecithin wie 1 : 1, dagegen wie 1 : 5 stehen (äußerstes Extrem); es bewegt sich um eine Relation von rund 1 : 1,3. Demgegenüber, und ebenso schematisiert, ergeben unsere Zahlenbefunde folgende Proportionen: 1 : 3,4; 1 : 4,2; 1 : 4, aber auch 1 : 3, jedenfalls im allgemeinen mit der Tendenz relativ gesteigerten Lezithins (s. o). Nach diesen wird man von „Lecithinämien" sprechen müssen, im Umfange der gesehenen Fälle; wirkliche Grenzvorkommen werden später folgen müssen.

Schließlich sei auf die Eingliederung des Gesamtcholesterins in den lipämischen Komplex verwiesen. Nach Prozenten von Gesamtätherextrakt erreicht die erstere Größe Zahlen von rund 50, die in der Norm, wo man im Mittel (auf der Basis Bloorscher Werte) mit 35 % rechnet, doch recht selten vorkommt, verglichen mit den Erscheinungen dieser Pathochemie.

Auf der Basis der Zahlen Bloors und unter der Annahme der Stichhaltigkeit seines Analysenganges werden wir finden: Schematisch gekreuzte Extreme 54 % und 25 %, großes Mittel 30 % bis 33 %. (Siehe übrigens später.)

Es liegen also nach der Statistik zur Hälfte der Fälle entschiedene Hypercholesterinämien vor. Mit den vorstehenden Angaben, Erörterungen und Verrechnungen dürfte die Frage der Lecithinämien bei Geisteskrankheiten (im Sinne von Bornstein und Peritz) umschrieben sein. Wie schon gesagt, wird das Material erweitert werden um Grenzfälle, die mit anderen, lipämischen Extremen zum Vergleich kommen sollen, durch Reihenbeobachtungen im einzelnen, durch Einbeziehung anderer Stadien als der Nüchternheit, durch fernere chemische Methoden.

Unter diese Auffassung bringen wir die hier und früher gebotene, kritische Bewertung der Leistungen unserer Verfahren an sich, im Vergleiche mit sonstigen Parallelarbeitsweisen, wie ihrer rechnerischen Verkettung. Wir nennen die Cholesterinfrage (Höhe der Werte, Interferenten, Oxycholesterin, Restlipoide usw.) die Wiedergabe des Lecithins aus dem Phosphatid P, die Spaltlinge desselben. Die Frage des Restphos-

phors bei Lezithinämien hat Verf. spezialistisch im Verfolg seiner einschlägigen Studien zusammengefaßt behandelt, so daß an dieser Stelle die Aufführung der Befunde nicht unbedingt nötig schien. Die übrigen Untersuchungen im Dienste unserer Aufgabe an Serum, Harn und Kot werden uns später beschäftigen.

Bei Epileptikern (Bornstein) stießen wir unter genauerer Untersuchung und Verrechnung nicht so häufig auf Lipämien, so daß wir zur Vermeidung einer Besprechung kontroverser Ergebnisse die eingeleitete Arbeit einstweilen abbrachen.

Verf. möchte dagegen auf einen weiteren Punkt hinweisen, der mit der Lecithinämie im engen Zusammenhange steht. Greenwald fand bei Durchprüfung der Voraussetzungen für die Methylalkohol-Chlorzinkfällung zur Isolierung des RN nach Folin und Denis folgende wichtige und interessante Tatsache. Beim gesunden Menschen habe man mit rund 2,5 mg Lipoid-N zu rechnen, der durch das Enteiweißungsmittel geradezu mit isoliert würde, statt (als Kolloid) in der Fällung übertragen zu werden. Verf. beschäftigte sich später eingehender mit dieser Frage und betonte, daß ähnliche Verhältnisse bei allen RN-Isolierungen eine Rolle spielen, soweit sie lipoid- und fettlösende Eiweißpracipitantien für sich oder in Gemischen verwenden. Alkoholäther (Taylor und Florence), 200,0 bis 500,0 ccm für 10 ccm Blut; absoluter Alkohol (Wolf) ähnliche Mengen, müssen geradezu extrahierend wirken im Sinne der Bloorschen Methode. Solche Enteiweißungen sind daher unbedingt zu verwerfen, mit Vorsicht auch bei Isolierung von Harnstoff (je nach dessen Bestimmung) zu beurteilen. Ihre Bedeutung wird bei Lecithinämien ersichtlich, wie oben gezeigt. Verf. sagte, daß man u. U. auf 3,0 mg (häufig) 4,5 mg (nicht zu selten) 6,0 mg (selten) Lipoid-N für 100 ccm Blut treffen könnte. Wie ein solcher im RN-Bilde der Norm (Mittel 25,0 mg; Basis 18,0 mg; obere Grenzwerte um 35,0 mg) mitwirken könne, mag nach obigem erschlossen werden. Für unsere spezifischen Lipämien ist die Möglichkeit des dreifachen Wertes nach Greenwald (!) gegeben. RN-Befunde mit Alkohol usw. Methoden bei Lues, Diabetes, Tabes, Paralyse usw. sind also mindestens zur Hälfte aller Vorkommnisse wertlos und bedürfen einer Richtigstellung da wo mit ihnen weiter argumentiert wurde. Die Frage des Lipoid-N wird ihrerseits zum Teile der RN-Methodologie.

Schlußsätze.

In der vorliegenden Mitteilung wird über Untersuchungen berichtet, die sich mit der Frage der „Lecithinämie bei Geisteskrankheiten" im Sinne von Peritz und Bornstein beschäftigen. Die früheren Arbeiten krankten an fühlbaren Mängeln, die mit der Einbeziehung verbesserter Methoden ausgeglichen werden konnten, besonders jedoch an dem Fehlen genauerer Parallelbeobachtungen über die Komponenten des Gesamtätherextraktes.

Bei Tabes, Tabo-Paralyse, Paralyse sind die angenommenen Lecithinämien nicht annähernd so verbreitet, wie die älteren Mitteilungen zu belegen scheinen. Sie kommen als solche etwa in der Hälfte größerer Reihen vor und sind nicht selten mit anderen Umstimmungen des lipämischen Bildes (Neutralfett, Cholesterin) verknüpft.

Die Verteilung von Fetten und Lipoiden, mit Einschluß der Verhältnisse des Cholesterins, sowie die gegenseitigen Beziehungen werden, (nach gewissen Richtungen belegt), auf dem Fuße der Methoden und Rechnungen von W. R. Bloor gemessen und vergleichend charakterisiert.

Die früheren und gegenwärtigen Grundlagen der einschlägigen Analysenverfahren werden besprochen und kritisiert. Die Frage nach den sekundären Spaltlingen des Phosphatid-P („Rest-P") ist bereits kurz zuvor angeschnitten worden und mit anderen Aufgaben einer späteren Erörterung vorbehalten. Die Bedeutung des Lipoid-N im Bilde des Gesamtrest-N wird kurz erörtert.

Für die gesamten Krankheiten kann also eine (Hyper-) Lecithinämie tatsächlich häufiger erkannt werden. Zur Charakterisierung ist jedoch die vollständige, analytische Umschreibung des Lipämiekomplexes unerläßlich. Die Untersuchungen belegen die geschilderten Umstimmungen als besondere Art, wenn dieselben mit den Erscheinungsformen sonstiger Lipämien verglichen werden. Weitere (bes. extreme) Fälle werden später nachgetragen.

Für die Zuweisung des in vorliegender Mitteilung verwerteten (sowie beträchtlich weiteren) Materials, das zur Erörterung der übrigen, z. Zt. in Arbeit befindlichen Aufgaben des fraglichen Gebietes dienen wird, ist Verf. den Herren Oberarzt und Lab.-Leiter Dr. Kafka (Hbg.-Friedrichsberg), Dr. W. Holz-

mann (Hbg., Korps-Nervenstation), Oberarzt Dr. E. Trömmer (Hbg.-Barmbeck), Sekundärärzten Dr. Knack und Dr. Querner zu großem Danke verpflichtet.

Literatur.

1. Peritz, G. Über das Verhältnis von Lues, Tabes, Paralyse zum Lecithin. Zeitschr. f. experim. pathol. Ther. **5**, 607 bis 621, 1909. — Derselbe. Berl. klin. Wochenschr. **3**, 1908, sowie Neurolog. Kongreß Heidelberg 1908.

2. Bornstein, A. Chemische Zusammensetzung des Blutes bei progressiver Paralyse. Monatsschr. f. psychiatr. Neurol. **25**, 160 bis 168, 1909. — Derselbe. Vortrag im Verein der Irrenärzte Niedersachsens und Westfalens 5, 2, 1908. — Derselbe. Über die Lecithinämie der Geisteskranken. Zeitschr. d. ges. Neurol. Psychiatr. **6**, 605 bis 608, 1911.

3. Bang, Erben, Erlandsen, Hoppe, Kaufmann, Nißl, Schulze, zit. in 1. bzw. 2.

4. Beumer, H. und Bürger, M. Beiträge zur Chemie des Blutes in Krankheiten mit bes. Ber. d. Lipoide. Zeitschr. f. experim. Pathol. Ther. **13**, 342 bis 370, 1913, III. Mitt. (Methodik usw.), IV. Mitt. (Diabetes und Lipämie).

5. Bang und Forssmann, Erben, Flury, Hegler, Hoppe-Seyler, Klemperer und Umber, Munk, Roehmann, Y. Seo, Wacker und Hueck, Weintraud, — zit. in 4.

6. Klein, W. und Dinkin, L. Über die Lipoide des menschlichen Serums und über Lipoidbestimmung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**, 302 bis 330, 1914.

7. Baldi, Chauffard (und Mitarbeiter), Dezani, Friboes, Gregersen, Grigaut, Kauders, Letsche, Mac Lean, Pighini, Reicher u. a., zit. in 6.

8. Sakai, S. Zur Pathogenese der Lipämie. Diese Zeitschr. **62**, 337 bis 345, 1914, das. neuere Lit.

9. Kimura, H. und Stepp, W. Über den Gehalt des Blutserums an ätherlöslichem P. Dtsch. Arch. f. klin. Med. **104**, 209, 1911.

10. Bloor, W. R. The Distribution of Lipoid „Fat" in human Blood. Journ. of Biolog. Chem. **25**, 577 bis 599, 1916. — Daselbst weitere Lit. über Methoden und Ergebnisse.

11. Ders., Studies on Blood fat, I Variations in the fat content usw. Journ. of Biolog. Chem. **19**, 1 bis 24, 1914.

12. Daddi, Freudenberg, Lattes, Meyer (und Mitarbeiter), Rosenfeld, Schulz, Terroine, zit. in 11.

13. Feigl, Joh. Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie. III. Fette und Lipoide des Blutes. Diese Zeitschr. **86**, 1, 1918.

14. Javal und Boyet sowie Imrie u. a. Isaak u. a., zit in 13.

15. Feigl, Joh. Neue Untersuchungen dgl. IV. Diese Zeitschr. **86**, 48. Weitere Literatur ebenda.

16. Derselbe. Neue Beiträge zur deskriptiven Biochemie gewisser

Ödemzustände I. Diese Zeitschr 85, 365. Bloor (System und Methoden), siehe dort, Seite 381, sowie zit. in 13.

17. Shimidzu, Y. Beitrag zur Kumagawa-Suto-Methode der Fettbestimmung. Diese Zeitschr. 28, 236 bis 273, 1918.

18. Bogdanow, Dormeyer, Liebermann, Rosenfeld u. a. siehe dort.

19. Gephart, F. C. und Csonka, Fr. A. On the estimation of fat in feces. Journ. of Biolog. Chem. 19, 521 bis 531, 1914; ebendort weitere Lit. (Thaysen u. a.)

20. Müller, I. H. A comparison of the results obtained by the colorimetr. and gravimetr. determinations of Cholesterol. Journ. of Biolog. Chem. 25, 549 bis 561, bzw. 561ff., 1916.

21. Siehe 13. vergleichende Cholesterinbestimmung (Weston, Weston-Kent, Bloor, Gettler-Baker usw.) Seite 18, Tab. V.

22. Feigl, Joh. Über Phosphate im menschlichen Blutserum I, 81, 380 bis 421, 1917.

23. Greenwald, Taylor-Miller, Taylor-Florence, Wolf u. a., sowie Lipoid-N ebenda.

24. Feigl, Joh., Über Phosphate (Rest-P) II, III, IV, V, ebenda 83, 81, 1917; 83, 218; 84, 264; 86, 395, 1918.

25. Derselbe. Über Phosphate VI. Diese Zeitschr. 1918.

26. Greenwald (1915, 1916), Marriott, Haeßler, Howland ebenda.

27. Bloor, W. R. A Method for the determination of lecithin . . . Journ. of Biolog. Chem. 22, 133 bis 144, 1915.

28. Bloor, W. R. und Knudson, A. Separate determination of cholesterol and ch. ester. Journ. of Biolog. Chem. 27, 107, 1916.

29. Dieselben. Cholesterol and Ch. esters in human blood. Ebenda 29, 7 bis 13, 1917.

30. Denis, W. Cholesterol in human blood under pathologic. conditions. Ebenda 29, 93 bis 110, 1917.

31. Über den Lipoid-N im RN bei Methoden mit wasserfreier Solvention, siehe 22. und I. Greenwald (1915).

Anmerkung: Über die chemische Destruktion und Degeneration des Zentralnervensystems berichteten Mott und Barratt sowie Mott und Halliburton, ferner S. Fraenkel (und Schüler) in neuen Arbeiten (1910). Die Befunde bestehen in der Feststellung größeren Wasserreichtums, erheblichen P- (Lipoid-) Verlustes mit Ersatz durch Fett in den degenerierten Abschnitten des Rückenmarks. S. Fraenkel, Über Lipoide XIII, Über Rückenmark (L. Dimitz). Diese Zeitschr. 26, 215 bis 319, 1910.

Von Interesse für die Frage der P-Verteilung (Lipoid-P und Rest-P, Protein-P) sind u. a. neuere Untersuchungen von M. L. Koch bzw. von W. Koch und W. L. Koch wichtig. Contributions to the chemical differentiation of the central nervous system I u. II. Journ. Biol. Chem. 14, 267 bis 282, 1913.

Die Einwirkung von Dicyandiamid auf das Wachstum verschiedener Mikroorganismen.

Von

Luise Moller.

(Aus dem landwirtschaftlich-technologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 2. März 1918.)

Der jetzt vielfach als Düngemittel angewandte Kalkstickstoff oder Stickstoffkalk hat bekanntlich häufig schädigenden Einfluß auf das Pflanzenwachstum gezeigt, und schon oft ist versucht worden, der Ursache auf den Grund zu kommen. Das Calciumcyanamid im Kalkstickstoff, das in fraglicher Richtung besondere Beachtung verdient, muß im Boden umgewandelt werden, damit die Pflanzen den Stickstoff für ihr Wachstum ausnützen können. Über diese Zersetzung sind die Meinungen sehr geteilt. Manche Forscher schreiben die Umwandlung rein chemischen Einflüssen zu. So sagt z. B. Stutzer[1]): „Die Kalkstickstoffzersetzung ist in der Hauptsache ein rein chemischer Prozeß". Auch Fr. Reis[2]) nimmt auf Grund seiner Versuche an, daß das Cyanamid durch eine rein chemische Einwirkung des Bodens umgewandelt wird. Er weist nach, daß durch Einwirkung von Eisenoxyd aus Cyanamid Harnstoff entsteht und vermutet, daß dieser dann einer weiteren Umwandlung durch Mikroorganismen in Ammoniak und Salpetersäure unterliegt.

Andere glauben den Abbau auf die Tätigkeit von Mikroorganismen zurückführen zu können. So weist Löhnis[3]) an

---

[1]) Landwirtschaftl. Versuchsstation. **65**, 275, 1907.

[2]) Chemische und physiologische Versuche mit Calciumcyanamid und mit einigen daraus hergestellten Verbindungen. Inaug.-Diss. Königsberg i. Pr. 1910, S. 35.

[3]) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., **14**, 87 u. 389, 1905.

einer Reihe von Versuchen nach, daß es eine Anzahl von Bakterienarten gibt, die imstande sind, aus Kalkstickstoff Ammoniak abzuspalten. Noch an einer anderen Stelle[1]) sagt derselbe Forscher, daß Kalkstickstoff unter günstigen Bedingungen durch Bakterien des Bodens verhältnismäßig rasch und vollständig in Ammoniak und kohlensauren Kalk übergeführt wird. In einer etwas späteren Arbeit ist Löhnis[2]) allerdings zu der Ansicht gekommen, daß das Cyanamid eine von Bakterien unangreifbare Substanz ist, und daß erst dann eine Ammoniakbildung aus Cyanamid in Lösungen oder im Boden eintreten kann, wenn durch die Einwirkung von Kohlensäure oder anderer Säure eine Umwandlung des Cyanamids in Ammoniumcyanat oder Harnstoff stattgefunden hat. Diese zuletzt von Löhnis aufgestellte Behauptung wird wiederum von Kappen[3]) widerlegt, der cyanamidzersetzende Bakterien und Pilze isoliert hat und bestreitet, daß Kohlensäure eine Umwandlung des Cyanamids bewirke. In einer anderen Arbeit sagt Kappen[4]), daß das durch Absorption des Bodens freiwerdende Cyanamid der durch Mikroorganismen leicht in Ammoniak umsetzbare Bestandteil des Kalkstickstoffs sei. Auch Immendorff und Thielebein[5]) sind der Meinung, daß Kalkstickstoff in normalem Boden schnell durch Bakterientätigkeit in Pflanzennahrung umgesetzt wird.

Aus all diesem sieht man, wie groß die Meinungsverschiedenheiten über die Zersetzung des Kalkstickstoffs sind. So sind auch schon häufig die verschiedenen Umsetzungsprodukte dieses Düngemittels auf ihre Spaltbarkeit durch Mikroorganismen geprüft worden, wobei es sich in den meisten Fällen herausstellte, daß die niederen Organismen, ebenso wie die höheren Pflanzen nur in ganz geringem Maße befähigt sind, diesen Stickstoff zu ihrem Zellenaufbau zu verwenden. Im Gegensatz zu dieser Ansicht stehen die Ausführungen verschiedener italienischer Forscher, die dem durch Polymerisation aus Kalkstickstoff entstehenden Dicyandiamid günstige Einwirkung auf das

---

[1]) Deutsche Landw. Presse. **32**, 51.
[2]) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 22, 254, 1909.
[3]) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., **24**, 382f., 1909.
[4]) Fühlings Landw. Zeitg. **57**, 283, 1908.
[5]) Fühlings Landw. Zeitg. **54**, 787, 1905.

Wachstum lebender Organismen zuschreiben. Ulpiani[1]) ist der Meinung, daß durch Anwendung von Dicyandiamid als N-Quelle die Keimung und Entwicklung der Pflanzen gefördert wird, und daß es eine von lebenden Organismen assimilierbare Stickstoffform ist. Er rät daher den Landwirten, die günstigsten Umstände zu finden, die eine Polymerisation des Cyanamids zu Dicyandiamid am schnellsten ermöglichen. Ulpiani ist sogar der Ansicht, daß selbst konzentrierte Lösungen von Dicyandiamid noch zur Ernährung von Pflanzen geeignet sind. Einen etwas gemäßigteren Standpunkt nimmt Perotti[2]) ein. Auch er schreibt zwar dem Dicyandiamid für das Pflanzenwachstum günstige Eigenschaften zu, jedoch sagt er, daß der Dicyandiamidgehalt in wäßrigen Lösungen nicht 2 bis 2,5 g pro Mille übersteigen dürfe. Niedere Organismen sind seinen Versuchen entsprechend noch widerstandsfähiger gegen diese N-Quelle. Perotti hält eine entsprechend geringe Menge von Dicyandiamid für eine landwirtschaftlich verwertbare Stickstoffdüngung. Er glaubt, daß die Dicyandiamidbildung im Boden gerade die Verwertbarkeit des Kalkstickstoffs bewirke. O. Loew[3]) hat durch Anwendung von $(CNNH_2)_2$ bei vielen niederen Organismen, wie Algen, Amöben usw., sowie für einige Bakterien und Pflanzen keinerlei Beeinträchtigung des Wachstums beobachten können. An anderer Stelle sagt Loew[4]), er glaube nicht, daß Dicyandiamid selbst ein Gift für die Pflanzen ist, sondern daß die manchmal beobachtete Giftwirkung vielmehr auf schädliche Spaltungsprodukte, die durch Bodenbakterien erzeugt werden, zurückzuführen ist.

Diesen Meinungen stehen zahlreiche Ansichten anderer Forscher gegenüber, die auf Grund ihrer Versuche das $(CNNH_2)_2$ für eine für lebende Organismen nicht vorteilhaft zu verwendende N-Quelle halten.

Immendorff und Thielebein[5]) sagen, daß ohne Umwandlung des Kalkstickstoffs durch Mikroorganismen in Harnstoff und kohlensaures Ammoniak leicht Dicyandiamid entsteht,

---

[1]) Chem.-Zeitg. **38**, 460, 1906 und Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., **19**, 337, 1907.

[2]) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., **18**, 55. 1907; **21**, 205, 1908.

[3]) Chem.-Zeitg. **32**, 676, 1908.

[4]) Chem.-Zeitg. **33**, 21, 1909.

[5]) Fühlings Landw. Zeitg. **54**, 794, 1905.

wodurch sich die häufig sich zeigende schädliche Wirkung des Kalkstickstoffs auf annähernd sterilen Sandböden oder sauren Böden erklären läßt. Immendorff stellt fest, daß Feldfrüchte durch Dicyandiamid geschädigt werden. Er sagt sogar: „Es wirkt auf die Pflanzen direkt giftig.“ O. Loew[1]) sieht in der Anwendung von Dicyandiamid als alleinige N-Quelle eine gewisse Schädigung für eine Anzahl von Bodenbakterien und auch für einige höhere Pflanzen; z. B. beobachtete er ein rasch fortschreitendes Welken bei jungen Gerstenpflanzen, deren Nährlösung 0,5 % Dicyandiamid zugefügt war. Seelhorst und Müther[2]) konstatieren eine deutliche Schädigung der Pflanzen durch Dicyandiamid. Wagner[3]) äußert sich in ganz ähnlicher Weise. Gerlach[4]) sagt: „Das Auftreten von Dicyandiamid als Spaltungsprodukt des Kalkstickstoffs wirkt auf Kulturpflanzen giftig.“ Popp[5]) schreibt dem Dicyandiamid keinen Düngewert zu. Er sagt, sobald es von den Pflanzen aufgenommen ist, erkranken diese, bleiben in der Entwicklung zurück und liefern weniger Ertrag, als wenn sie ohne N-Düngung geblieben wären. Löhnis und Sabaschnikoff[6]) bestätigen die Angaben derjenigen Forscher, nach denen das Dicyandiamid nicht angreifbar für Bakterien ist. Th. Pfeiffer und W. Simmermacher[7]) haben gefunden, daß Kalkstickstoff mit hohem Dicyandiamidgehalt eine starke Pflanzenschädigung verursacht. Die weiteren Versuche von Th. Pfeiffer und Simmermacher[8]) ergeben eine deutliche Schädigung des Pflanzenwachstums durch Dicyandiamid. Ausschließliche Düngung mit $(CNNH_2)_2$ würde zu einer völligen Vernichtung der Pflanzen geführt haben. Die Körnererzeugung bei Hafer hatte in besonders hohem Maße unter der Einwirkung des Dicyandiamids zu leiden. Die schädigende Einwirkung beruht auf einer unnützen Aufspeicherung des Amid-N in Stengeln und Blättern, der für die Körnerbildung keine Verwendung findet.

[1]) Chem.-Zeitg. 32, 676, 1908.
[2]) Journ. f. Landwirtschaft 53, 329.
[3]) Landwirtschaftl. Versuchsstation 66, 331.
[4]) Jahrb. d. deutsch. landw. Gesellsch. 19, 36, 1904.
[5]) Chem.-Zeitg. 32, 972, 1908.
[6]) Fühlings landw. Zeitg., Heft 1, 18, 1908.
[7]) Fühlings landw. Zeitg. 65, 207, 1916.
[8]) Landwirtschaftl. Versuchsstation 90, 415 bis 430, 1917.

Um etwas zur Klärung dieser Frage beizutragen, habe ich auf Wunsch von Herrn Prof. Dr. F. Ehrlich im Jahre 1917 im Landwirtschaftlich-technologischen Institut der Universität Breslau eine Reihe von Versuchen angestellt, die über die Einwirkung des Dicyandiamids auf das Wachstum von Kahmhefen, Pilzen und Bakterien einigen Aufschluß geben sollen.

Zu den Versuchen wurden zunächst einige unter normalen Verhältnissen sich kräftig entwickelnde Kahmhefen und Schimmelpilze in Reinkulturen verwendet. Für die Nährlösung wurde immer die gleiche Zusammensetzung gewählt:

200 ccm dest. Wasser,
2,0 g Traubenzucker,
0,6 g KH_2PO_4,
0,1 g $MgSO_4$,
Spuren von NaCl und Fe_2Cl_6.

Dieser Nährlösung wurde chemisch reines Dicyandiamid in verschiedenen Mengen zugesetzt. Zu den Parallelversuchen gab ich die gleiche Menge Stickstoff in Form von Ammoniumsulfat hinzu. Die Nährlösungen wurden sterilisiert und in üblicher Weise beimpft. Die Reaktion war gegen Lackmus schwach sauer. Bei den mit den Kahmhefen Willia anomala und Willia saturnus beimpften Dicyandiamid-Versuchen zeigte sich sehr bald, daß diese N-Quelle bei Willia anomala überhaupt kein Wachstum der Hefe aufkommen ließ. Bei Willia saturnus war die Wachstumshemmung so groß, daß bei gleicher Versuchsdauer und Versuchsanstellung nur eine ganz geringe Menge an Hefetrockensubstanz gewonnen werden konnte im Vergleich zu den mit Ammoniumsulfat beschickten Parallelversuchen.

Ebenso, teilweise sogar noch ungünstiger, war das Ergebnis mit Dicyandiamid bei den mit den Pilzen Penicillium glaucum, Aspergillus niger, Oidium lactis, Aspergillus oryzae und Fusarium roseum angestellten Versuchen. Außer diesen durch Analysen bestimmten Beeinträchtigungen des Wachstums waren die Dicyandiamid-Versuche schon äußerlich von denen mit Ammoniumsulfat zu unterscheiden. Bei allen D-N-Versuchen wurde der Beginn des Wachstums um einige Tage verzögert. Ferner war bei der Kahmhefe die Hautbildung sehr schwach oder blieb ganz aus. Bei den Schimmelpilzen blieb das

Wachstum auf eine spärliche, flockige Mycelbildung innerhalb der Nährlösung beschränkt, während die Versuche mit Ammoniumsulfat im 1. Falle eine kräftige, für die Kahmhefen charakteristische Hautbildung zeigten, und im 2. Falle üppige Pilzdecken hervorbrachten, die besonders bei Aspergillus niger, Oidium lactis und Fusarium roseum kräftige Fructifikation ergab.

Bei der Aufarbeitung wurden sämtliche Versuche zunächst auf ihre Reinheit geprüft, wobei es sich herausstellte, daß alle frei von Infektion geblieben waren. Bei den Dicyandiamid-Versuchen waren die Mikroorganismen mehr oder weniger degeneriert. Der Traubenzucker war noch zum Teil unverbraucht, was mittels Fehlingscher Lösung festgestellt wurde. Freies Ammoniak hatte sich durch die Mikroorganismen nicht abgespalten. Die diesbezügliche Prüfung mit Neßlers Reagens verlief stets negativ. Bei den kräftig gewachsenen Ammoniumsulfat-Versuchen war dagegen aller Zucker verbraucht.

Die folgende Tabelle zeigt die Ernten einer Versuchsreihe an Trockensubstanz und den darin enthaltenen Stickstoff. Den Versuchen war 1 g $(CNNH_2)_2$ zugesetzt, den Parallelversuchen entsprechend 3,3 g $(NH_4)_2SO_4$.

Tabelle I.

Parallele	Die oben angegebene Nährlösung mit	Kultur	Wachstum	Versuchsdauer	Trockensubstanz g	Gesamt-N der Trockensubstanz g	Gesamt-N der Trockensubstanz %
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Willia anomala	—	5 Wochen	—	—	—
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,3154	0,0178	5,64
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Willia saturnus	mäßig	5 Wochen	0,1245	0,0150	12,04
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,3520	0,0285	8,09
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Penicillium glaucum	mäßig	5 Wochen	0,1526	0,0248	16,25
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,7124	0,0556	7,80
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus niger	mäßig	5 Wochen	0,1009	0,0109	10,80
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,4914	0,0308	6,26
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Oidium lactis	mäßig	4 Wochen	0,0652	0,0110	16,87
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,7436	0,0490	6,59
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus oryzae	mäßig	4 Wochen	0,0507	0,0055	10,84
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,2767	0,0233	8,42
a	1,0 g $(CNNH_2)_2$	Fusarium roseum	mäßig	4 Wochen	0,0445	0,0072	16,18
b	3,3 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,3407	0,0324	9,50

Um festzustellen, ob die bei obigen Versuchen sich ergebende Beeinträchtigung des Wachstums in der zu hohen Dicyandiamidgabe begründet ist, wurden weitere Versuche mit geringeren Mengen desselben ausgeführt. Auch diesen wurden Parallelversuche mit entsprechenden Mengen von Ammoniumsulfat gegenübergestellt. Es wurden angewandt:

0,50 g $(CNNH_2)_2$, parallel 1,65 g $(NH_4)_2SO_4$,
0,25 g $(CNNH_2)_2$, parallel 0,83 g $(NH_4)_2SO_4$.

Tabelle II.

Parallele	Die oben angegebene Nährlösung mit	Kultur	Wachstum	Versuchsdauer	Trockensubstanz g	Gesamt-N der Trockensubstanz g	Gesamt-N der Trockensubstanz %
a	0,50 g $(CNNH_2)_2$	Willia saturnus	schwach	5 Wochen	0,0370	0,0108	29,18
b	1,65 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,4446	0,0113	2,54
a	0,50 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus niger	schwach	5 Wochen	0,0802	0,0061	7,60
b	1,65 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,4709	0,0267	5,67
a	0,25 g $(CNNH_2)_2$	Willia saturnus	schwach	5 Wochen	0,0145	0,0091	62,75(?)
b	0,83 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,4180	0,0292	6,99
a	0,25 g $(CNNH_2)_3$	Aspergillus niger	schwach	5 Wochen	0,0650	0,0071	10,92
b	0,83 g $(NH_4)_2SO_4$		sehr gut		0,4549	0,0250	5,49

Aus Tabelle II ergibt sich, daß selbst noch bei Zusatz von 0,25 g $(CNNH_2)_2$ auf 200 ccm Nährlösung, also 0,125 %, eine deutliche Hemmung des Wachstums der Mikroorganismen eintritt. Übereinstimmend bei allen D-N-Versuchen ist die Ausbeute an Trockensubstanz eine äußerst geringe, ihr relativer N-Gehalt dagegen ein außerordentlich hoher, wie sich aus den auf Trockensubstanz bezogenen Zahlen in Tabelle I und II ergibt. Die Vermutung lag daher nahe, daß die hohen N-Zahlen sich durch von den Organismen nicht abgebauten, in ihren Zellen als solchen aufgespeicherten Amidstickstoff erklären lassen. Wie die späteren Versuche zeigen, bestätigt sich diese Annahme völlig. Die Mikroorganismen verhalten sich dem Dicyandiamid gegenüber also ganz ähnlich wie die höheren Pflanzen. Sie vermögen den Amid-N nur in ganz geringen Mengen zu ihrem Zellenaufbau und zur Eiweißbildung auszunützen.

Die in Tabelle III angegebenen Versuche sollen zeigen,

ob auch eine Hemmung des Wachstums eintritt, wenn den Organismen neben dem Amidstickstoff noch eine andere, ihnen zusagende Stickstoffquelle geboten wird, oder ob das Dicyandiamid in dieser Hinsicht als indifferent zu betrachten ist.

Tabelle III.

Parallele	Die oben angegebene Nährlösung mit	Kultur	Wachstum	Versuchsdauer	Trockensubstanz	Gesamt-N der Trockensubstanz	
					g	g	%
a	0,83 g $(NH_4)_2SO_4$ 0,25 g $(CNNH_2)_2$	Willia saturnus	sehr gut	5 Wochen	0,3843	0,0277	7,20
b	0,83 g $(NH_2)_2SO_4$	Willia saturnus	sehr gut	5 Wochen	0,4180	0,0292	6,99
a	0,83 g $(NH_4)_2SO_4$ 0,25 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus niger	sehr gut	5 Wochen	0,4774	0,0290	6,07
b	0,83 g $(NH_4)_2SO_4$	Aspergillus niger	sehr gut	5 Wochen	0,4549	0,0250	5,49

Wenn also den Mikroorganismen neben $(CNNH_2)_2$ noch Ammoniumsulfat als N-Quelle gegeben wird, tritt weder eine sichtliche Beeinträchtigung noch eine Förderung des Wachstums zutage.

Hefe und Pilze decken in diesem Falle offenbar ihren N-Bedarf nur durch Ammoniumsulfat. Die Ausbeute an Trockensubstanz und Stickstoff ist hier fast die gleiche wie bei den nur Ammoniumsulfat enthaltenden Versuchen. Zu ähnlichen Ergebnissen waren Stutzer und Reis[1]) gekommen bei Anwendung von Pepton neben $(CNNH_2)_2$. Bei alleiniger Anwendung von Dicyandiamid als N-Quelle ist auch hier das Wachstum verschiedenster Mikroorganismen äußerst schwach. Man kann daraus den Schluß ziehen, daß die bei Dicyandiamid als alleiniger N-Quelle auftretende Wachstumshemmung nicht auf einer direkten Giftwirkung beruht, sondern lediglich durch das fast völlige Fehlen assimilierbaren Stickstoffs bedingt wird.

Nach all diesen orientierenden Vorversuchen galt es, mit Sicherheit nachzuweisen, ob die oben angegebene Vermutung, Aufspeicherung von unverbrauchtem Amidstickstoff, sich bewahrheitete. Zu diesem Zweck wurde eine ganze Anzahl von

[1]) Journ. für Landwirtschaft, 58, 71, 1910.

Versuchen mit der bekannten Nährlösung angesetzt und mit denselben Mikroorganismen beimpft. Beim Abbrechen der Versuche wurden diese wieder mikroskopisch und chemisch geprüft; dann gelangte in der Hälfte der Parallelversuche, wie bisher, die Trockensubstanz und deren Gehalt an Gesamtstickstoff zur Bestimmung. In einem anderen Teil der Versuche wurde der Eiweißstickstoff nach der Stutzerschen Methode — Fällung mit Kupferoxydhydrat — bestimmt und so nachgewiesen, wieviel Eiweiß-N durch die Mikroorganismen entstanden war und wieviel unverbrauchter Amid-N in den Zellen aufgespeichert wurde. Selbstverständlich wurde stets der im Filter enthaltene Stickstoff von der Gesamtsumme abgezogen.

Wie Tabelle IV zeigt, ist die durch die Mikroorganismen aus Dicyandiamid entstandene Eiweißmenge bedeutend geringer als die aus Ammoniumsulfat gebildete.

Tabelle IV.

Die oben angegebene Nährlösung mit je	Kultur	Parallele	Wachstum	Versuchsdauer	Trockensubstanz g	Gesamt-N der Trockensubstanz g	Gesamt-N der Trockensubstanz %	Eiweiß-N g	
1,0 g $(CNNH_2)_2$	Willia saturnus	a	schwach	3 Wochen	—	—	—	0,0010	ca. 1% Eiweiß-N, ca. 99% Nicht-Eiweiß-N
		b			—	—	—	0,0003	
		c			0,0757	0,0076	10,39	—	
		d			0,0896	0,0106	11,83	—	
3,3 g $(NH_4)_2SO_4$	Willia saturnus	a	sehr gut	5 Wochen	—	—	—	0,0101	ca. 53% Eiweiß-N, ca. 47% Nicht-Eiweiß-N
		b			0,3662	0,0191	5,21	—	
1,0 g $(CNNH_2)_2$	Penicillium glaucum	a	schwach	5 Wochen	—	—	—	0,0069	ca. 41% Eiweiß-N, ca. 59% Nicht-Eiweiß-N
		b			0,1225	0,0168	13,71	—	
3,3 g $(NH_4)_2SO_4$	Penicillium glaucum	a	gut	5 Wochen	—	—	—	0,0457	ca. 90% Eiweiß-N, ca. 10% Nicht-Eiweiß-N
		b			0,6861	0,0512	7,46	—	
		c		3 Wochen	—	—	—	0,0380	Hier ist der Gesamt-N in Eiweiß umgewandelt
		d			0,5152	0,0363	7,04	—	
1,0 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus niger	a	schwach	4 Wochen	—	—	—	0,0026	ca. 24% Eiweiß-N, ca. 76% Nicht-Eiweiß-N
		b			0,0630	0,0108	17,14	—	
3,3 g $(NH_4)_2SO_4$	Aspergillus niger	a	sehr gut	3 Wochen	—	—	—	0,0186	ca. 86% Eiweiß-N, ca. 14% Nicht-Eiweiß-N
		b			0,4370	0,0216	4,94	—	

Tabelle V.

Nährlösung mit je	Kultur	Wachstum	Dauer	Parallele	Trockensubstanz g	Eiweiß-N g	Eiweiß-N %	Amid-N g	Amid-N %	Gesamt-N g	Gesamt-N %	Von dem Gesamt-N sind Eiweiß-N %	Von dem Gesamt-N sind unverbrauchter Amid-N %
1 g $(CNNH_2)$	Willia saturnus	schwach	4 Wochen	a	0,0560					0,0050	8,92		
				b	0,0463					0,0045	9,71		
				c	0,0425					0,0040	9,41		
				d	0,0450	0,0022	4,52	0,0036	8,00	0,0058	12,52	37,74	62,26
				e	0,0486	0,0017	3,49	0,0036	7,40	0,0053	10,89	32,08	67,92
				f	0,0541	0,0022	4,06	0,0038	7,02	0,0060	11,08	36,67	63,33
1 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus niger	schwach	4 Wochen	a	0,0704					0,0096	13,63		
				b	0,0630					0,0108	17,14		
				c	0,0807					0,0115	14,00		
				d	0,0732	0,0026	3,55	0,0084	11,47	0,0110	15,02	23,6	76,4
				e	0,0811	0,0006	0,74	0,0103	12,71	0,0109	13,45	5,5	94,5
				f	0,0588	0,0002	0,34	0,0082	13,94	0,0084	14,28	2,4	97,6
1 g $(CNNH_2)_2$	Aspergillus oryzae	schwach	4 Wochen	a	0,0507					0,0055	10,84		
				b	0,0566	0,0011	1,94	0,0082	14,88	0,0093	16,78	11,83	88,17
1 g $(CNNH_2)_2$	Oidium lactis	schwach	4 Wochen	a	0,0652					0,0110	16,87		
				b	0,0426	0,0014	3,28	0,0079	18,54	0,0093	21,84	15,05	84,95
1 g $(CNNH_2)_2$	Fusarium roseum	schwach	4 Wochen	a	0,0445					0,0072	16,18		
				b	0,0427	0,0009	2,10	0,0079	18,50	0,0088	20,60	10,23	89,77

Um auch zahlenmäßig den Nachweis für den durch die Mikroorganismen aufgenommenen, aber zur Eiweißbildung nicht verbrauchten Amid-N zu führen, wurde in der folgenden Versuchsreihe durchweg zunächst die Trockensubstanz bestimmt. Dann wurde in einem Teil der Parallelversuche der Gesamtstickstoff, bei einem anderen Teil Eiweiß- und unverbrauchter Amidstickstoff getrennt bestimmt, letzterer im Filtrat nach Fällung des Eiweiß-N mittels $Cu(OH_2)_2$. Die Schwankungen in der Trockensubstanzausbeute erklären sich naturgemäß dadurch, daß man es mit lebenden Organismen zu tun hat, die selbst bei sorgfältigster, gleichmäßiger Versuchsanstellung doch nicht immer ganz gleich gut wachsen.

Endlich sollte noch die Einwirkung des Dicyandiamids auf Bakterien festgestellt werden. Zu diesem Zweck habe ich eine ganze Reihe von zahlreich in Erde und Wasser vorkommenden Bakterien in dieser Hinsicht geprüft. Die Versuche wurden mit der üblichen Nährlösung angesetzt und beimpft mit: Bacterium coli, Bacillus subtilis, Bacterium amylobacter Stamm D, Clostridium β, Bacterium amylobacter Stamm H, Granulobact. butylicus, Bacillus mesentericus flavus, Bacillus mesentericus ruber, Bacillus aerogenes, Bacillus butyricus, Bacillus megatherium und Bacillus mycoides.

Bei sämtlichen 10 Bakterienarten war kaum etwas von Wachstum zu beobachten, obgleich der Vorliebe dieser Mikroorganismen für schwach alkalische Reaktion durch Anwendung von K_2HPO_4 anstatt KH_2PO_4 Rechnung getragen worden war. Die in einzelnen Fällen in den ersten Tagen nach der Beimpfung auftretende schwache Trübung der Nährlösung, z. B. bei Bacillus butyricus, Bacillus megatherium und Bacillus mycoides, nahm nicht mehr zu, so daß beim Abbrechen der Versuche nach 5 resp. $3^1/_2$ Wochen keine abfiltrierbaren Bakterienmengen entstanden waren. Diesen Dicyandiamid-Versuchen wurden ebenfalls Kontrollen mit Ammoniumsulfat gegenüber gestellt. Die angewandten N-Mengen waren einesteils 0,5 g $(CNNH_2)_2$, andernteils 1,65 g $(NH_4)_2SO_4$ auf 200 ccm Nährlösung. Hierbei zeigte sich, daß die Bakterien in bezug auf Stickstoff bedeutend anspruchsvoller sind wie Hefen und Schimmelpilze, denn auch bei alleiniger Anwendung von Ammoniumsulfat blieb das Bakterienwachstum schwach. Diese Mikroorganismen gedeihen erst

kräftig, wenn man ihnen neben oben genannten N-Quellen Pepton bietet. Ganz ähnliche Beobachtungen findet man in der schon im Anfang zitierten Inaug.-Dissert. von Fr. Reis, Königsberg 1910.

Fasse ich nun kurz die von mir gemachten Feststellungen zusammen, so muß ich mich der Meinung derjenigen Forscher anschließen, die in der Anwendung von Dicyandiamid als alleinige N-Quelle für lebende Organismen keinen Vorteil, sondern eher eine ungünstige Beeinflussung ihres Wachstums erblicken.

Ganz übereinstimmend mit den oben erwähnten, von Pfeiffer und Simmermacher gemachten Beobachtungen an höheren Pflanzen habe ich bei Hefen und Schimmelpilzen ebenfalls eine Aufspeicherung von unverbrauchtem Amid-N festgestellt, was durch die Versuche in den Tabellen IV und V nachgewiesen ist.

Das Retentionsvermögen der Nieren für Glucose. Eine neue physiologische Permeabilitätsform[1]).

Von

H. J. Hamburger und **R. Brinkman** in Groningen.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 3. März 1918.)

I. Einleitung.

Wenn man die Literatur über die Physiologie der Harnabsonderung studiert, fällt es auf, daß dem Blutzucker nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt wird. Insbesondere muß das befremden bei derjenigen der beiden Harnbildungstheorien, die die Ludwigsche Vorstellung zum Grundgedanken hat, d. h. die Vorstellung, nach der der Harn in der Hauptsache ein Filtrationsprodukt der Glomeruli sei. Zu den voranstehenden Vertretern dieser Auffassung durfte Starling[2]) gerechnet werden. Nach ihm filtriert durch den Glomerulus ein proteinfreies Blutplasma, das also alle Krystalloide enthält, die im Blutplasma vorkommen und zwar in unveränderter Konzentration. Da der osmotische Druck des Plasmaeiweißes nach Starling 25 bis 30 mm Hg beträgt, so soll demnach der Blutdruck in den Knäueln etwas größer sein, was nach Starling zutrifft. Der eine von uns hat in seinem Buch „Osmotischer Druck und Ionenlehre"[3]) bei der Behandlung der Nierenfunktion darauf

[1]) Kürzere Mitteilungen über die vorliegenden Untersuchungen erschienen in den Sitzungsberichten der Niederl. Königl. Akad. d. Wissenschaften vom 27. Januar und 29. September 1917.

[2]) Starling, The Journ. of Physiol., 24, 317, 1899. Man vergl. auch u. a. Bayliss, Principles of general Physiol.; London, Longmans Green & Co., 1915, und Cushny: The Secretion of urine; London, Longmans Green & Co., 1917.

[3]) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre, 2, 402 ff.

hingewiesen, daß, wenn ebenso wie das Eiweiß der Blutzucker vom Glomerulusepithel zurückgehalten wird, was doch auch damals als nicht unwahrscheinlich betrachtet werden konnte, der Blutdruck in den Glomeruluscapillaren um mehr als 100 mm Hg höher sein müßte, also wenigstens 130 mm Hg betragen sollte. Demgegenüber wurde dann von Hamburger hervorgehoben, daß noch Harn abgeschieden wird bei einem arteriellen Blutdruck in der Carotis von 13 bis 16 mm Hg, selbst von 9 mm. Wieviel geringer wird dann der Blutdruck in den Glomerulusgefäßen sein, bei dem noch Urin abgesondert wird! Obgleich Starling über diesen Einwand nicht spricht, hat er demselben doch in seinem Lehrbuch entgegenzukommen versucht, indem er sich nachträglich dahin äußert, daß bei näherer Betrachtung der Blutdruck in den Glomerulusgefäßen wohl sehr hoch sein werde, also weit über die Ordnung von 30 mm Hg hinaus: „The pressure of the glomerulicapillaries is probably not more than 20 mm Hg below that of the main arteries of the body“[1]); der Druck in der menschlichen Carotis ist etwa 90 mm Hg (65 bis 110). Irgendeinen experimentellen Grund hat der Verf. jedoch für diesen hohen Betrag nicht angegeben; freilich hat er es wahrscheinlich gemacht, daß der arterielle Druck in den Glomeruluscapillaren etwas höher sein muß als in den Vasa afferentia, aber für die Annahme eines so beträchtlichen Druckes wie von der Größenordnung in der Arteria carotis des Menschen hat er keinen einzigen Grund angeführt.

Wie aber der eine von uns am erwähnten Orte betont hat, braucht man solche unwahrscheinlich hohe Druckwerte in den Glomerulusgefäßen nicht anzunehmen, denn zunächst handelt es sich hier nicht um Filtration in Luft, sondern in den mit Flüssigkeit gefüllten intracapsulären Raum. Es gilt hier eine Filtrationsform, auf die vor Jahren bereits Cohnstein[2]) bei Gelegenheit von dessen Studien über die Lymphbildung aufmerksam gemacht hat und der er den Namen „Transsudation“ beigelegt hat. Es handelt sich hier um ein Produkt der Zusammenwirkung von Filtration, Diffusion (Glomeruli) und osmo-

---

[1]) Starling, Principles of Human Physiol., London, J. & A. Churchill, 1912, 1271.

[2]) Cohnstein, Virchows Archiv 135, 514, 1894.

tischer Wirkung. Im vorliegenden Fall braucht der Filtrationsdruck nur sehr gering zu sein. Zweitens wurde von Hamburger bei derselben Gelegenheit die Aufmerksamkeit gelenkt auf die Entlastung, die der erforderliche Druck in den Glomerulusgefäßen erfährt seitens des die Glomeruli umspinnenden Capillarnetzes[1]). Leider sind die diesbezüglichen Ausführungen von späteren Autoren wenig berücksichtigt worden, was wahrscheinlich wohl dem zugeschrieben werden muß, daß sie nicht in einem Zeitschriftenartikel veröffentlicht wurden. Hätte Starling die Anwendung des Transsudationsgedankens übernommen, so wäre es auch nicht nötig gewesen, die hohe Konzentration von SO_4, P_2O_5 usw. im Harn, sowie auch die großen Unterschiede zwischen den quantitativen Verhältnissen der Krystalloide im Serum einerseits und im Harn anderseits dadurch zu erklären[2]), daß

[1]) Osmotischer Druck 2, 417 ff.

[2]) Cohnstein hat ausgeführt, daß, wenn man eine 5,33%ige NaCl-Lösung durch ein Pergamentfilter in Luft filtriert, das Filtrat eine 5,33%ige NaCl-Lösung ist und bleibt, unabhängig vom Filtrationsdruck. Denkt man sich aber den Apparat statt in Luft in destilliertes Wasser gesetzt, so wird eine konzentriertere Lösung durchgehen. So beobachtete er in einem seiner Versuche, daß praktisch eine 26,65%ige NaCl-Lösung durchtrat. Diese 26,65%ige Lösung bezeichnet Cohnstein als Transsudat. Es ist das Produkt der Zusammenwirkung von Filtration, Diffusion und osmotischer Wirkung. Im Gegensatz zu der Filtration in Luft übt bei der Filtration in Flüssigkeit der Druck, d. h. der Druckunterschied zwischen Innen- und Außenflüssigkeit, einen Einfluß auf die Zusammensetzung des Filtrats aus. Je größer der Filtrationsdruck, desto kürzere Zeit hat relativ die Diffusion von Salz zur Verfügung, das Filtrat konzentrierter zu machen.

Diese Überlegung übertrug Cohnstein auf die Lymphbildung und auch auf die Milchbildung und führte dabei gegenüber Heidenhain aus, daß in dieser Weise deutlich wird, wie Milch einen viel höheren Kalkgehalt besitzt als das Blutplasma und daß es also überflüssig sei, anzunehmen, daß in der Milchdrüse eine so undenkbar gewaltige Lymphmenge produziert werde, wie sonst nötig wäre. Nach Cohnstein kann man Versuchsanordnungen treffen, bei denen das Transsudat eine Substanz in 10 fach höherer Konzentration enthält als das des Filtrats. Lafayette Mendel und auch Bernstein haben sich dieser Anschauung angeschlossen. Widerspruch hat sie, insoweit uns bekannt, nicht erfahren, und doch scheint sie in der Literatur kaum Berücksichtigung zu finden. Es schien uns daher erwünscht, auf das wichtige Prinzip hier die Aufmerksamkeit zu lenken.

Aus diesem Gesichtspunkt soll bei der Harnbildung die

die Harnröhrchen die Substanzen wie Cl, SO_4 usw. „nach dem Bedürfnis“ in deren Lumen sezernieren und resorbieren: „As the result of the complementary processes of absorption and secretion in the tubules, the unchanging glomerular filtrate undergoes great modifications in its passage towards the ureter“ (l. c. S. 1287). Natürlich wollen wir damit nicht sagen, daß die gewundenen Harnröhrchen bei der Harnabsonderung keine Rolle spielen; bereits die Verschiedenheit im morphologischen Vorkommen der Epithelzellen redet gegen eine solche Annahme das Wort.

Wie dem auch sei, eine wohlbegründete Ansicht über das Verhalten der Nieren gegenüber Blutzucker ist für das vollständige Verständnis der normalen Nierenfunktion unentbehrlich, m. a. W. keine Theorie der Harnabsonderung ist annehmbar, wenn sie dem Blutzucker keine Rechnung tragen kann. Wo nun, wie unten erörtert werden wird, unsere Versuchsresultate gelehrt haben, daß das Glomerulusepithel imstande ist, Zucker zurückzuhalten und kein Grund vorliegt, diese Erscheinung einem aktiven „vitalen“ Prozesse zuzuschreiben, schien es angemessen, hier noch einmal auf die Möglichkeit hinzuweisen, daß die Annahme eines hohen Filtrationsdruckes in den Glomeruluscapillaren ganz überflüssig ist. Da das Glomerulusepithel des Frosches 0,07 % Glucose zurückzuhalten vermag, würde Starlings Auffassung gemäß der Druck in den Froschknäueln mehr als 70 mm Hg betragen müssen, d. h. 95 cm Wasser, während der hydrostatische Druck in der Aorta höchstens 80 cm betrug.

Wenden wir uns nun zum Ausgangspunkt der jetzt folgenden Untersuchungen.

Weshalb ist bei einem normalen Individuum der Harn ganz oder fast ganz frei von Glucose, solange die Konzentration dieser Substanz in der Blutflüssig-

---

sogenannte Rückresorption betrachtet werden, die einen so großen täglichen Arbeitsverlust bedeuten würde, wie eigentlich nicht zu erwarten ist und der nicht angenommen werden darf, wenn triftige Gründe dafür nicht angeführt werden können, oder besser gesagt, solange eine andere plausible Erklärung, wie die der Anwendung des Transsudationsbegriffes, verworfen werden muß.

keit einen gewissen Betrag nicht überschreitet? Warum tritt im allgemeinen erst dann Glucose im Harn auf, wenn eine Hyperglykämie vorhanden ist[1])?

Zwei Erklärungen sind denkbar[2]).

1. Man kann sich vorstellen, daß die normale Glomerulusmembran eine 0,1%ige Glucoselösung erträgt, ohne etwas von dieser Substanz durchgehen zu lassen, jedoch von einer höheren Konzentration nicht allen Zucker zurückzuhalten vermag. Man wird dann im letzteren Fall annehmen müssen, entweder, daß die chemisch-morphologische Struktur der Membran durch Berührung mit einer z. B. 0,2%igen Zuckerlösung eine Änderung erfährt, oder daß die Glomerulusmembran auch dann impermeabel bleibt, aber jetzt die Harnkanälchen in Tätigkeit geraten und das Zuckerübermaß absondern.

2. In zweiter Linie kann man annehmen, daß das normale Glomerusepithel sogar für eine 0,1%ige Zuckerlösung durchgängig ist, daß aber die Substanz deswegen nicht in den Harn übergeht, weil sie in der Blutbahn vorhanden ist als eine mehr oder wenig labile kolloidale Verbindung, die die Glomerulusmembran nicht zu passieren vermag [Henriques (1897), Bing (1898), Loewi (1902), Pavy (1906), Lépine (1907)]. Ist das

---

[1]) Über den Phloridzindiabetes, wo bekanntlich Glucosurie ohne Hyperglykämie erfolgt, wird im Zusammenhang mit den in diesem Artikel beschriebenen Untersuchungen Brinkman im Quarterly Journal of Experimental Physiology berichten.

Zu den experimentellen Glucosurien, die ebenfalls mit Hypoglykämie einhergehen und also von rein renalem Ursprung zu sein scheinen, gehört, wie sich unten noch weiter herausstellen wird, die Uranglucosurie und die Glucosurie, die nach Underhill und Closson (Amer. Journ. of Physiol. **15**, 321, 1906) nach intravenöser Einverleibung von $CaCl_2$ bei Kaninchen entstehen soll, und endlich auch die von Pollack beobachtete Glucosurie nach Einverleibung von Chromat, Sublimat und Cantharidin (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 415, 1911). Auch beim Menschen kommt nach Salomon (Deutsche med. Wochenschr. **1914**, Nr. 5) und nach Wynhausen und Elzas (Nederl. Tijdschr. v. Geneeskunde **1918**, 474) eine Glucosurie vor bei normalem Blutzuckergehalt, also auch eine Glucosurie von renalem Ursprung. Die Autoren bezeichnen dieselbe mit Diabetes (Glucosuria) innocens.

[2]) Eine dritte Erklärung, nach der der abgeschiedene Zucker in normalen Umständen zurückresorbiert wird, besprechen wir nicht.

Bindemittel nicht in genügender Menge im Blutplasma vorhanden, so bleibt ein Teil in freiem Zustande zirkulieren. Welches das Bindemittel ist, darüber sind Annahmen gemacht worden, aber wir sind darüber noch völlig im Unsichern. Sogar Lépine, der wohl am meisten in dieser Richtung gearbeitet hat und den kolloidal gebundenen Zucker mit dem allgemein bekannt gewordenen Namen „sucre virtuel" bezeichnet hat, läßt uns hier im Stich.

Indessen sind gegen das Festhalten von Zucker als kolloidale Verbindung Einwände erhoben worden. Zunächt ließen Asher und Rosenfeld[1]) zuckerhaltiges Blut gegen Blut diffundieren, das durch Vergärung mit Hefe zuckerfrei gemacht worden war, und schlossen aus dem Vorhandensein einer Diffusion von Zucker auf die einfache, nicht kolloidale Beschaffenheit des Blutzuckers. Nachdem aber insbesondere von Pflüger[2]) diese Schlußfolgerung bestritten war, wurde nach einer anderen Methode das Problem von Michaelis und Rona[3]) studiert. Sie benutzten die Methode der Kompensationsdialyse, mit einer Pergamentmembran als Dialysator und schlossen aus ihren Experimenten, daß der Zucker sich in freiem Zustande im Blut befindet, m. a. W. von einer Bindung von Zucker in kolloidaler Form sei nicht die Rede. Diese Experimente, die noch durch die Vivi-Diffusionsversuche von Abel[4]) bestätigt wurden, haben großen Eindruck gemacht, und es scheint, daß man dadurch an einen toten Punkt gelangt ist.

Doch scheint uns mit diesen Versuchen die Vorstellung einer kolloidalen Zuckerbindung nicht widerlegt; denn es wäre sehr gut möglich, daß die Verbindung von Glucose mit irgendeiner Serumsubstanz wohl eine Pergament- oder Kollodionmembran passieren kann, nicht aber das Glomerulusepithel, m. a. W. es ist nicht unmöglich, daß die Autoren, was durch ihre Membranen diffundierte, mit Unrecht als einfachen Zucker angesehen haben.

---

[1]) Asher und Rosenfeld, diese Zeitschr. 13, 351, 1907.

[2]) Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. 117, 217, 1907.

[3]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 14, 476 1908.

[4]) J. J. Abel, The Journ. of Pharmacol. 5, 275 1914, zitiert nach Bayliss, Principles of general Physiol. S. 33.

Hat sich ja aus den Untersuchungen von Bechhold[1]) genügend herausgestellt, daß bestimmte kolloidale Teilchen durch die eine Membran wohl durchgelassen werden, nicht aber durch eine andere mit kleineren Porenweiten. Man erinnert sich, daß Bechhold mit Rücksicht darauf Kollodionmembranen aus verschiedenen Kollodionkonzentrationen hergestellt hat. Die Versuchsresultate von Brown[2]) mit Kollodionmembranen verschiedener Herstellung liegen in derselben Richtung. Selbst seine Membranen unterscheiden verschiedene anorganische Salze.

In diesem Gedankengang ultrafiltrierten wir Serum, das eine bekannte Menge Glucose enthielt, durch Membranen von verschiedenem Kollodiongehalt bei einem Druck von 4 bis 5 Atmosphären, aber das Reduktionsvermögen der Ultrafiltrate berechtigte nicht zu der Annahme, daß eine kolloidale Glucoseverbindung vom Ultrafilter zurückgehalten worden war. Damit erachteten wir aber unseren Einwand gegen die Schlußfolgerung von Rona und Michaelis als nicht widerlegt; denn, auch wenn eine sehr dichte Kollodionmembram (9 %) einer (kolloidalen) Verbindung den Durchgang gestattet, so ist es doch sehr gut möglich, daß die Glomerulusmembran für die Verbindung impermeabel ist, so daß auch unser Experiment ebensowenig wie das von den genannten Autoren genügende Beweiskraft gegen die insbesondere von Pavy und Lépine verfochtene Anschauung besitzt.

Außerdem ist es nicht undenkbar, daß die in der Blutbahn in kolloidaler Form vorhandene Glucose sich während der Dialyse oder Ultrafiltration spaltet und als freier Zucker im Dialysat auftritt. Daher schien es uns empfehlenswert, auf systematischem Wege zu untersuchen, ob trotz der Resultate der Diffusions- und Ultrafiltrationsversuche die Auffassung der kolloidalen Zuckerbindung schließlich doch nicht die richtige war.

Zu diesem Zweck entschlossen wir uns, in erster Linie zu untersuchen, ob freie Glucose von den Nieren durchgelassen wird, eine Frage, die bis jetzt noch nicht beantwortet wurde. Würde sich dann herausstellen, daß die

---

[1]) Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden, Steinkopf, 1912.

[2]) W. Brown, The Biochemical Journal 9, 591, 1915.

Nieren für freie Glucose permeabel sind, so wäre weiter zu untersuchen, ob die Glucose in Gegenwart von Serum zurückgehalten werden würde.

So wurde dann das Blutgefäßsystem der Nieren mit Ringerflüssigkeit durchströmt, zu der eine bekannte Zuckermenge hinzugesetzt war. Würde es sich dann zeigen, daß die aus den Uretern tröpfelnde Flüssigkeit dieselbe Zuckerkonzentration enthielt wie die Durchströmungsflüssigkeit, und würde es sich dann ferner herausstellen, daß eine zuckerenthaltende Ringerflüssigkeit, der etwas Serum hinzugesetzt worden war, einen zuckerfreien künstlichen Harn lieferte, so wäre, meinten wir, nachgewiesen, daß im Serum eine Substanz vorhanden ist, die den Zucker in einer Form bindet, die vom Glomerulusepithel nicht durchgelassen wird. Und dann würde des weiteren zu untersuchen sein, um welche Substanz es sich hier handelte.

Bevor wir zu der Beschreibung der Versuche schreiten, sei es gestattet, ein paar Bemerkungen technischer Art zu machen.

II. Einige technische Bemerkungen.

Für die Versuche wurden ausschließlich Frösche gebraucht. Die Versuchsbedingungen sind bei diesen Tieren viel einfacher als bei den Warmblütern. Später, wenn die Zeitverhältnisse einen normalen Gasverbrauch erlauben, werden wir auch Versuche an Warmblütern anstellen können. Es wurden große männliche Exemplare von Rana Esculenta benutzt. Nachdem der Kopf durch Scherenschnitt entfernt ist, wird das Rückenmark mittels einer langen Nadel zerstört und alle Organe, außer Nieren, Testes und Blasen, auf einmal entfernt. Dann wird eine feine Injektionsnadel in die Aorta communis eingeführt und in jeden Ureter eine feine mit kugelförmiger Erweiterung versehene Glaskanüle. Die Erweiterung dient zum Auffangen des künstlichen Harns.

Die Flüssigkeit, die durch das Blutgefäßsystem geführt wird, muß reichlich mit Sauerstoff versehen werden. Dieser perlt beständig durch die Durchströmungsflüssigkeit, die sich 60 cm oberhalb des Froschkörpers befindet. Die Erfahrung lehrt, daß in dieser Weise stündlich $\pm$ 150 ccm Flüssigkeit durch die Nieren fließt. Es wird im Mittel 0,4 ccm Harn

ausgeschieden. **Dieser Harn ist als ein Glomerulusprodukt zu betrachten.** Es sind dafür verschiedene Gründe anzuführen, auf die wir unten zurückkommen (vgl. u. a. S. 126). Wir heben an dieser Stelle hervor, daß, wenn man beim genannten Druck die Durchströmungsflüssigkeit ausschließlich durch die Vena porta renalis fließen läßt, kein Harn in die Uretern ausgeschieden wird, wohl aber bei einem viel höheren Druck, aber dann noch äußerst langsam[1]).

Es sei daran erinnert, daß die Vena porta renalis bloß die Harnkanälchen mit Blut versieht. Dagegen versorgt die A. renalis die Glomeruli und teilweise auch die Tubuli, speziell die vierten Abschnitte [Nußbaum, Beddard, Bainbridge and Beddard, Cullis[2])].

Was die Durchströmungsflüssigkeit betrifft, so bestand dieselbe aus dem Ringerschen Gemisch, dem verschiedene Substanzen, meist Glucose, hinzugesetzt waren. Bei der Bereitung der Flüssigkeiten wurde darauf geachtet, daß das destillierte Wasser keine Kohlensäure enthielt, deshalb wurde es immer vorher ausgekocht. Auch wurden die Flüssigkeiten in einer Sauerstoffatmosphäre angefertigt. Die Flasche, in der die Ringerflüssigkeit aufbewahrt wurde, war, um Verunreinigungen des Glases vorzubeugen, paraffiniert. Weiter wurde dafür gesorgt, daß beim Ausfließen der Flüssigkeit aus der Flasche keine Kohlensäure in die Flasche treten konnte, und zwar dadurch, daß die Luft durch Natronkalkröhrchen zu streichen genötigt war. Es sind dies alles Vorsorgemaßregeln, die nicht vernachlässigt werden dürfen. Sie haben sich durch mehrmaliges Mißlingen von Versuchen aufgedrängt.

Über die Zusammensetzung der Ringerflüssigkeit wird noch ausführlicher die Rede sein. Hier wollen wir nur hervorheben, daß für die Sommer- und Winterfrösche die Durchströmungsflüssigkeit nicht dieselbe sein darf. Das wird wohl sehr deutlich illustriert durch die Untersuchungen de Waards im hiesigen Laboratorium über den Calciumgehalt des Serums von Winter-

---

[1]) Cf. S. 9, 19.

[2]) Für die Literatur über die funktionelle Trennung der Glomeruli und Tubuli lese man R. Magnus, „Die Tätigkeit der Niere“ in Oppenheimers Handbuch der Biochemie, 3, 1. Teil, 521, 1910.

und Sommerfröschen, mittels einer von ihm ausgearbeiteten Mikromethode. Der Unterschied ist erheblich[1]).

Die Glucosebestimmung von Durchströmungsflüssigkeit und Nierenprodukt erfolgte mittels der ausgezeichneten Mikromethode von I. Bang[2]). Die Methode erlaubt in 0,1 ccm Flüssigkeit den Glucosegehalt zu 0,006 % exakt zu bestimmen.

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß der nach der beschriebenen Methode erhaltene künstliche Harn ein Glomerulusprodukt ist und nicht aus den Harnröhrchen stammt. Es wird dies noch dadurch bestätigt, daß Unterbindung der Nierenpfortader (Vena porta renalis) niemals Einfluß auf den Glucosegehalt des Harns hatte. Offenbar war der Druck, unter dem die Durchströmungsflüssigkeit durch die Aorta gepreßt wurde, nicht imstande, auch noch Flüssigkeit durch die für einen Teil der Harnröhrchen dienenden Gefäße durchzutreiben.

III. Die Permeabilität der Froschnieren für in Ringerflüssigkeit aufgelöste, also freie Glucose.

Wie oben erwähnt, sollte in erster Linie die bis jetzt noch nicht geprüfte fundamentale Frage beantwortet werden, ob bei Durchströmung einer glucosehaltigen Ringerflüssigkeit die Glucosekonzentration des Harns der der Durchströmungsflüssigkeit gleich werden würde. Die Ringerlösung hatte die gebräuchliche Zusammensetzung: NaCl 0,7 %, $NaHCO_3$ 0,02 %, KCl 0,01 %, $CaCl_2$ 0,0075 %.

Aus wiederholten Versuchen stellte sich nun heraus, daß die Reduktionswerte (Glucosekonzentrationen) beider Flüssigkeiten vollständig dieselben waren. Jeder Versuch wurde wenigstens 3 mal wiederholt; alle ergaben dieselben Resultate.

20. bis 26. Januar 1916.

1. Nieren von der Aorta aus durchströmt mit Ringerlösung, die 0,1 % Glucose enthält. Druck ± 50 cm Wasser. Reduktion (in Glucoseretention ausgedrückt) Durchströmungsflüssigkeit 0,098 %; Harn aus linker Niere 0,095 %, aus rechter Niere 0,095 %.

2. Durchströmung von der Aorta aus mit Ringerlösung, die 0,05 % Glucose enthält. Druck ± 60 cm Wasser. Reduktion Durchströmungs-

[1]) Man vgl. die Fußnote S. 108.

[2]) I. Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1916.

flüssigkeit 0,05 %; Harn aus linker Niere 0,05 %, aus rechter Niere 0,045 %.

3. Durchströmung von der Aorta aus mit glucosefreier Ringerlösung. Der Harn zeigt keine Reduktion[1]).

Diese Resultate, die also eine vollständige Permeabilität der Niere für Glucose zeigten, bildeten eine anscheinend zuverlässige Grundlage für weitere Untersuchungen. Es wurde nun erwartet, daß entsprechend der Auffassung der kolloidalen Zuckerbindung bei Hinzufügung von Serum zu der glucosehaltigen Ringerflüssigkeit die Glucose ganz oder teilweise festgelegt werden würde, m. a. W., daß das Reduktionsvermögen des Nierenproduktes jetzt geringer sein würde als das der Durchströmungsflüssigkeit.

IV. Die Durchgängigkeit der Nieren für Glucose, wenn diese Substanz in einem Gemisch von Serum und Ringerflüssigkeit aufgelöst ist.

Für die betreffenden Versuche wurde Pferde- und Rinderserum mit der 2-, 3-, 4- und 5fachen Quantität Ringerflüssigkeit verdünnt, zu welchen Gemischen je eine bekannte Glucosemenge (0,1 %) hinzugefügt wurde. Die Abscheidung der Ureterflüssigkeit erfolgte äußerst langsam.

Wir lassen hier einige der vielen Experimente folgen.

I. Froschnieren durchströmt mit einer Flüssigkeit, die aus 50 ccm Pferdeserum + 150 ccm Ringer + Glucose + Harnstoff bestand. Reduktion dieses Gemisches 0,17 %; Reduktion des Harns 0,086 %. Es ist also 0,09 % Glucose zurückgehalten (= die Glucosemenge in normalem Pferdeserum).

II. Durchströmung mit 75 ccm Rinderserum + 225 ccm Ringer + Glucose + Harnstoff. Reduktion Durchströmungsflüssigkeit 0,21 %; Reduktion des Harns rechts 0,12 %, links 0,105 %.

III. Durchströmung mit 60 ccm Pferdeserum + 240 ccm Ringer + Glucose + Harnstoff. Reduktion Durchströmungsflüssigkeit 0,14 %; Reduktion des Harns rechts 0,03 %, links 0,028 %.

Bei 5facher Serumverdünnung wird also noch 0,11 % Glucose zurückgehalten.

---

[1]) Letzteres mag einen Augenblick befremdend erscheinen, da die Bangsche Methode nach dem Autor selbst mit Wasser eine Eigenreduktion von 0,001 bis 0,002 % gibt und, wie sich herausstellt, auch mit reiner Ringerflüssigkeit. Da aber diese Eigenreduktion ebenfalls für die Durchströmungsflüssigkeit gilt, wird der Fehler eliminiert. In diesem Sinne ist der Ausdruck zu verstehen: „Der Harn zeigt keine Reduktion".

Auf dieselbe Weise wird bei einer 6 fachen Verdünnung 0,07 % und bei einer 7 fachen Verdünnung 0,06 % Glucose zurückgehalten, aber bei einer 8 fachen Verdünnung fast nichts mehr.

Man ersieht, daß, solange die Verdünnung des Serums nicht weiter als bis zum 8 fachen geht, ziemlich viel Zucker zurückgehalten wurde (bzw. 0,17 bis 0,086, 0,21 bis 0,11, 0,21 bis 0,105, 0,14 bis 0,03, 0,14 bis 0,028).

Bei starker Verdünnung ist die Zuckerretention geringer und bei einer 8 fachen Verdünnung ist sie = 0.

Es wurde nun versucht, die Ursache dieses ziemlich scharfen Wendepunktes ausfindig zu machen, aber mitten in der bereits ausführlich beschriebenen Untersuchung war der Vorrat der Ringerflüssigkeit verbraucht und neue mußte angefertigt werden. Bald aber stellte es sich in diesen Versuchen heraus, daß das Retentionsvermögen der Nieren für Glucose jetzt ein ganz anderes geworden war als in den zahlreichen vorigen Versuchen. Es wurde dann an die Möglichkeit gedacht, daß die Ringerflüssigkeit nicht ganz der früher gebrauchten entsprach. War vielleicht der Ca-Gehalt ein anderer? Man spricht oft von einer Chlorcalciumlösung bestimmter Konzentration, ohne hinzuzufügen, ob diese von wasserfreiem $CaCl_2$ oder von $CaCl_2 \cdot 6$ aq bereitet ist. In der Tat ergab sich, daß Zusatz von ein wenig $CaCl_2$ zu der neuen Ringerflüssigkeit einen erheblichen Einfluß auf die Glucoseausscheidung hatte. War ja jetzt die Glucosekonzentration der Ureterflüssigkeit der der Durchströmungsflüssigkeit gleich. Diese Beobachtung, die durch mehrere Parallelversuche bestätigt wurde, veranlaßte uns, zu untersuchen, ob bei Durchströmung mit der neuen serumfreien Ringerlösung alle Glucose durchgelassen werden würde, wie das mit der anfänglich angewandten Ringerlösung der Fall gewesen war.

Zu unserer Befremdung stellte sich aber heraus, daß bei Durchströmung mit der neuen Ringerflüssigkeit Glucose durch die Nieren zurückgehalten wurde[1]).

Unter diesen Umständen war es nötig, systematische Untersuchungen anzustellen über den Einfluß, den Änderung

---

[1]) Man vergleiche hierzu den späteren Befund über den Ca-Gehalt der Blutflüssigkeit von Sommer- und Winterfröschen, S. 110 und 111. und S. 118 und 119.

der Zusammensetzung der Ringerflüssigkeit auf die Durchgängigkeit der Nieren für Glucose ausüben würde. Später kommen wir dann auf den Einfluß von Serumzusatz zurück.

V. Änderung im Verhältnis des K und Ca in der Ringerflüssigkeit.

Wie aus folgender Tabelle hervorgeht, wurde in der Ringerflüssigkeit lediglich die $CaCl_2$-Menge modifiziert, während die KCl-Menge konstant blieb. Die Glucosemenge in der Durchströmungsflüssigkeit betrug immer 0,1 %.

Tabelle I.

Einfluß der Änderung des Ca-Gehalts in der Ringerflüssigkeit.

	NaCl %	$NaHCO_3$ %	NCl %	$CaCl_2$ ohne Krystallwasser %	Reduktion %		Zuckerretention %
					Durchströmungsflüssigkeit	Harn	
1.	0,7	0,02	0,01	0,005	0,09	0,09	0
2.	0,7	0,02	0,01	**0,0075**	**0,095**	**0,065**	**0,03**
3.	0,7	0,02	0,01	0,010	0,09	0,08	0,01
4.	0,7	0,02	0,01	0,015	0,09	0,09	0

Diese 4 Versuche wurden je dreimal wiederholt mit genau denselben Resultaten.

Man sieht, daß bei der Anwendung einer 0,005 %igen $CaCl_2$-Lösung keine Glucose zurückgehalten wird. Gebraucht man dagegen eine 0,0075 %ige, so wird 0,095 bis 0,065 = 0,03 % Glucose zurückgehalten. Steigt aber der $CaCl_2$-Gehalt zu 0,010 %, so wird noch kaum 0,01 % Glucose zurückgehalten; dagegen bei 0,015 % $CaCl_2$ nichts.

Das günstigste Verhältnis zwischen den Konzentrationen von K zu Ca beträgt also 4:3; was, auf die Anzahl Atome umgerechnet, K : Ca = 2 : 1 wird. Daß es sich hier um das Verhältnis zwischen K und Ca handelt und nicht um die absolute Ca-Menge, geht aus der folgenden Tabelle hervor. Sieht man ja, daß auch bei einer geringen Steigerung des K-Prozentes die Ca-Menge vermehrt werden muß.

Tabelle II.

Einfluß der Änderung des Verhältnisses zwischen K und Ca in der Ringerflüssigkeit.

NaCl %	NaHCl₃ %	NCl %	CaCl₂ %	Reduktion % Durchströmungsflüssig elt	Reduktion % Harn	Zuckerretention %
0,7	0,02	0,01	0,0075	0,095	**0,065**	**0,03**
0,7	0,02	0,015	0,0075	0,08	0,08	0
0,7	0,02	0,014	0,011	0,10	**0,065**	**0,035**

Wir lassen hier noch zwei Versuchsreihen folgen, die ungefähr ein Jahr später (Februar bis März 1917) angestellt wurden. Die erste Reihe betrifft den Einfluß von Änderung des Ca-Gehalts der Ringerflüssigkeit (Tabelle III), die zweite betrifft den Einfluß der Änderung des K-Gehalts (Tabelle IV).

Tabelle III.

Einfluß der Änderung des Ca-Gehalts in der Ringerflüssigkeit.

Februar bis März 1917.

NaCl %	NaClCo₃ %	KCl %	CaCl₂ %	Reduktion % der Durchströmungsflüssigkeit	Reduktion % des Harns links	Reduktion % des Harns rechts	Retention von Glucose %	
0,6	0,020	0,010	0,000	0,098	0,095	0,096	0	V. porta renalis abgebunden[1])
0,6	0,020	0,010	0,0005	0,100	0,095	0,094	0	
0,6	0,020	0,010	0,001	0,090	0,092	0,088	0	
0,6	0,020	0,010	0,002	0,090	0,090	0,090	0	
0,6	0,020	0,010	0,003	0,090	0,10	0,096	0	

Setzt man die Steigerung der $CaCl_2$-Konzentration um 0,001 % bis zu 0,006 % fort, so erfolgt keine Retention von Glucose.

NaCl %	NaClCo₃ %	KCl %	CaCl₂ %	Reduktion % der Durchströmungsflüssigkeit	Reduktion % des Harns links	Reduktion % des Harns rechts	Retention von Glucose %	
0,6	0,020	0,010	**0,006**	0,098	0,080	0,082	0,017	
0,6	0,020	0,010	**0,007**	0,098	0,076	0,075	0,022	
0,6	0,020	0,010	**0,0075**	0,09	0,060	0,061	**0,030**	V. porta renalis abgebunden[1])
0,6	0,020	0,010	**0,008**	0,096	0,066	0,068	**0,030**	
0,6	0,020	0,010	0,009	0,102	0,102	0,096	0	
0,6	0,020	0,010	0,010	0,098	0,10	0,10	0	

[1]) Man ersieht also, daß die Resultate sich auf das Glomerulusprodukt beziehen.

Tabelle IV.

Einfluß der Änderung des KCl-Gehalts in der Ringerflüssigkeit.

März 1917.

NaCl %	$NaHCl_3$ %	KCl %	$CaCl_2$ %	Reduktion %			Glucoseretention %
				Durchströmungsflüssigkeit	Harn		
					links	rechts	
0,6	0,020	0,000	0,0075	0,095	0,070	0,072	0,025
0,6	0,020	0,000	0,0075	0,090	0,068	0,069	0,021
0,6	0,020	0,002	0,0075	0,095	0,070	0,070	0,025
0,6	0,020	0,004	0,0075	0,115	0,092	0,088	0,025
0,6	0,020	0,006	0,0075	0,10	0,098	0,10	0
0,6	0,020	0,006	0.0075	0,085	0,080	0,084	0
0,6	0.020	**0,008**	0,0075	0,10	0,070	0,070	**0,03**
0,6	0,020	**0,010**	0,0075	0,098	0,070	0,070	**0,03**
0.6	0.020	**0,014**	0,0075	0,10	0,065	0,070	**0,03**
0,6	0,020	**0,016**	0,0075	0,10	0,070	0,075	**0,0.8**
0,6	0,020	0,018	0,0075	0,092	0,094	0,092	0
0,6	0,020	0,020	0,0075	0,080	0,070		0,010
0,6	0,020	0,022	0,0075	0,098	0,095	0,098	0

Läßt man also aus der Ringerflüssigkeit, die die richtige Menge $CaCl_2$ enthält, nämlich 0,0075 %, das Kalium vollständig weg, so wird noch Glucose zurückgehalten, und zwar $\pm$ 0,02 %; fügt man nun 0,005 bis 0,006 % KCl hinzu, so wird alle Glucose durchgelassen; steigt man weiter, so wird bei KCl 0,008 bis 0,017 % die maximale Glucosemenge (0,03 %) zurückgehalten; bei höherer KCl-Konzentration nimmt die Zuckerretention wieder ab.

Hieraus erhellt, daß das Kalium nicht absolut unentbehrlich ist[1]). Wird aber Kalium hinzugefügt, so ist es keineswegs indifferent, wieviel, und man bekommt den Eindruck, daß es mit der vorhandenen Ca-Menge balancieren muß (Lillie, Osterhout, vgl. auch Tab. II).

---

[1]) Daß das Kalium durchaus unentbehrlich für die Durchströmungsflüssigkeit des Herzens ist, wundert uns nicht; verbraucht ja das Herz Kalium bei der Muskelarbeit. Bei der Niere aber, die ja hauptsächlich nichts anderes ist als ein passives, wenn auch kompliziertes und empfindliches lebendiges Filter, liegt die Sache anders. Aber dasselbe arterielle Blut muß alle Organe versehen und für jedes Organ dasjenige zur Verfügung haben, was es nötig hat. So ist es zu verstehen, daß die optimale künstliche Durchströmungsflüssigkeit nicht für jedes einzelne Organ dieselbe Zusammensetzung zu besitzen braucht.

Wir kommen auf die Bedeutung des Kaliums unter VIII noch zurück.

Daß auch die Konzentration des NaCl eine Rolle spielt, dürfte aus folgenden Versuchen hervorgehen.

VI. Das Verhältnis von Na : K (Uran und Radium) : Ca.

Zur Fortsetzung der in den Tabellen I und II erwähnten Versuche sollte eine neue Sendung von Fröschen gebraucht werden. Die für die Durchströmung angewandte Ringerflüssigkeit bestand wieder aus NaCl 0,7 %, $NaHCO_3$ 0,02 %, KCl 0,01 %, $CaCl_2$ 0,0075 %, Glucose 0,09 %. Zu unserem Erstaunen wurde jetzt nur wenig oder absolut keine Glucose zurückgehalten. Wir legten uns dann die Frage vor, ob vielleicht die Na-Menge Einfluß ausüben könnte. Die Antwort ergibt sich aus folgender Tabelle.

Tabelle V.

Das Verhältnis zwischen Na, K und Ca.

NaCl %	$NaHCO_3$ %	KCl %	$CaCl_2$ %	Reduktion %		Retention von Glucose %
				Durchströmungsflüssigkeit	Harn	
0,7	0,02	0,01	0,0075	0,09	0,09	0
0,7	0,02	0,01	0,010	0,102	0,085	0,017
0,7	0,02	0,01	0,012	0,105	0,085	0,02
0,7	0,02	0,01	0,0075	0,085	0,085	0
0,6	0,02	0,01	0,0075	0,085	0,060	0,025
0,6	0,02	0,01	0,0075	0,100	0,070	0,03
0,6	0,02	0,01	0,005	0,090	0,070	0,020
0,6	0,02	0,01	0,0025	0,085	0,075	0,010
0,6	0,02	0,01	0,010	0,12	0,115	0,005

Man ersieht aus der ersten Hälfte der Tabelle, daß abweichend von den Resultaten von Tabelle II, in der KCl:$CaCl_2$ = 0,01:0,0075 = 4:3 und wobei 0,03 % Glucose zurückgehalten wurde, das hier nicht der Fall ist. Freilich wird bei den jetzt gebrauchten Fröschen beim genannten Verhältnis etwas zurückgehalten, aber nicht so viel wie 0,03 %. Die Retention beträgt nicht mehr als 0,02 %, wenn nämlich KCl:$CaCl_2$ = 4:4 = 1:1.

Was war die Ursache des Unterschiedes im Verhalten zwischen der neuen und der früheren Sendung? Es wurde

an die Temperatur gedacht, bei der die letztere Sendung aufbewahrt war. Diese betrug 8°; früher war die Temperatur höher gewesen. Daß nun in der Tat die Temperatur nicht ohne Einfluß ist, ging aus der Tatsache hervor, daß, wenn die Niere durch Eis abgekühlt wird, man ein wenig mehr $CaCl_2$ zu der Durchströmungsflüssigkeit zuzufügen hatte, um eine Retention von 0,03°/₀ zu erzielen[1]), aber dann mußte auch, wenn das Verhältnis $KCl:CaCl_2$ auf 4 : 3 blieb, das NaCl von 0,7 auf 0,6°/₀ gebracht werden.

Aus diesen Versuchen, die mehrfach bestätigt wurden, geht hervor, daß, um die bis jetzt erreichte maximale Glucoseretention zu erzielen, ein bestimmtes Verhältnis von Na, K und Ca vorhanden sein muß. Von diesem Verhältnis also hängt der Zustand des Glomerulusepithels ab.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch die Anionen beim Gleichgewicht eine Rolle spielen. Man bekommt aber den Eindruck, daß die Proportion der Kationen die Führung hat.

Durch die Tatsache, daß Störung des Kationengleichgewichtes von großem Einfluß auf die Permeabilität der Nieren für Zucker ist, lassen sich noch zwei interessante Beobachtungen erklären, die bis jetzt nicht verstanden sind.

Zunächst fanden Underhill und Closson[2]), daß, wenn man bei einem Kaninchen in eine Ohrvene eine $CaCl_2$-Lösung spritzt, neben einer Hypoglykämie Glucosurie auftritt; es liegt

---

[1]) Später, als in Zwaardemakers Laboratorium die Herztätigkeit bei Durchströmung mit der üblichen Ringerflüssigkeit zu wünschen übrig ließ, hat auch Dr. S. de Boer unabhängig von uns gefunden, daß die Herzen von Sommerfröschen eine Durchströmungsflüssigkeit von höherem Ca-Gehalt erfordern als die der Winterfrösche. Er kam auf den Gedanken, den Ca-Gehalt der Ringerflüssigkeit zu steigern, weil im Sommer die Kalksäckchen erheblich kleiner sind als im Winter. Dementsprechend hat Herr D. J. de Waard mittels einer von ihm im hiesigen Laboratorium ausgearbeiteten Mikromethode für den als $CaCl_2$ bezeichneten Ca-Gehalt des Serums gefunden: Oktober 1917 0,029 bis 0,030°/₀, 7. Januar 1918 0,0126°/₀, 16. Januar 0,043°/₀, 17. Januar 0,0162°/₀, 24. Januar 0,0163°/₀. Die Frösche des letztgenannten Experimentes haben eine Woche bei Zimmertemperatur verweilt.

[2]) Underhill und Closson, The Americ. Journ. of Physiol. 5, 321, 1916. Zitiert nach Bang: Der Blutzucker, 1913, 103.

nahe, an eine Störung des Gleichgewichtes zwischen Na, K und Ca zu denken.

In zweiter Linie ist bereits einige Jahre bekannt, daß durch Einverleibung von Uran Glucosurie entstehen kann[1]). Nun haben Zwaardemaker und Feenstra im Anschluß an die von N. R. Campbell gemachten Beobachtungen, daß K das einzige im Körper vorkommende radioaktive Element ist, gefunden, daß in der Ringerflüssigkeit, die die Schläge des Froschherzens unterhält, das Kalium durch Uran, Radium und Thorium, und zwar in äquiradioaktiven Dosen, ersetzt werden kann[2]). Wir konnten konstatieren, daß auch, wenn man die Nieren mit der üblichen obengenannten Ringerflüssigkeit durchströmt, die 0,01 %ige K- durch eine äquiradioaktive Urannitrat- und Radiumbromiddosis von resp. 0,0015 % und 0,0000005 % ersetzt werden kann[3]). Diese Dosen würden ganz anders ausgefallen sein, wenn sie im chemischen Sinne äquivalent gewesen wären (nämlich 0,0112 % und 0,0259 %). Ja selbst eine Bestrahlung mit Mesothorium war imstande, das K zu ersetzen[4]). Es scheint also nicht gewagt, das Entstehen der Uranglucosurie auf eine durch Änderung des normalen K-Gehalts herbei geführte Gleichgewichtsstörung zurückzuführen[5]).

---

[1]) Pollack, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 64, 415, 1911. Vgl. auch Bang, Der Blutzucker.

[2]) F. P. Feenstra, Proceedings of the Koninklyke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Sitzungsberichte von 28. April 1916 und 27. Mai 1916.

[3]) Hamburger und Brinkman, Proceedings of the Koninklyke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Sitzungsbericht vom 27. Januar 1917.

[4]) Hamburger et de Waard, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 1917.

[5]) Zwaardemaker und Feenstra, ibid. 30. September 1916. Mit dieser Erklärung für das Entstehen von Glucosurie durch Einspritzung von ein wenig Urannitrat steht nicht in Widerspruch der günstige therapeutische Effekt, den man bei Diabetes durch Zugabe von Uran beobachtet hat (Hughes und West; vgl. Cammidge, Glucosuria and allied conditions, London, Edward Arnold, S. 339). Fanden wir ja, daß, wenn in unserer Ringerflüssigkeit 100 mg KCl pro Liter durch 15 mg $U(NO_3)_4$ pro Liter ersetzt wurde, die maximale Glucosemenge zurückgehalten wurde. Nimmt man statt 15 mg Urannitrat 25 mg, so wird wenig zurückgehalten. Bringt man 35 mg des Uransalzes in 1 l

VII. Der $NaHCO_3$-Gehalt in der Durchströmungsflüssigkeit.

Die bis jetzt angestellten Versuche hatten ergeben, daß aus der mit 0,1 % Glucose beschickten optimal erachteten Durchströmungsflüssigkeit höchstens 0,03 % Glucose zurückgehalten werden konnte. Und diese Retention wurde zu unserem Befremden noch kleiner, wenn die Glucosekonzentration in der Durchströmungsflüssigkeit herabgesetzt wurde. Eigentlich hatten wir erwartet, daß bei Durchströmung mit 0,03 % Glucose der Harn vollkommen frei von Zucker sein würde. Das war aber nicht der Fall; ein zuckerfreies Glomerulusfiltrat konnten wir überhaupt nicht bekommen. Da nun die normale Glucosekonzentration des Froschblutes 0,03 bis 0,06 % beträgt und der Froschharn zuckerfrei ist, legten wir uns die Frage vor, ob dann die bis jetzt gebrauchte Ringerlösung wohl die meist physiologische war. Deswegen versuchten wir die Durchströmungsflüssigkeit zu verbessern. Der Einfluß von $CaCl_2$, KCl und NaCl war schon studiert; es lag nun auf der Hand, den Einfluß der $NaHCO_3$-Konzentration zu untersuchen.

Seit Ringer hat man allgemein angenommen, daß in künstlichen Durchströmungsflüssigkeiten das $NaHCO_3$ unentbehrlich ist. Auch wir hatten bei den vorliegenden Untersuchungen beobachtet, daß es in der Durchströmungsflüssigkeit der Nieren notwendig ist. Ohne $NaHCO_3$ war keine Spur Glucose zurückzuhalten.

Bekanntlich besteht die Funktion des $NaHCO_3$ u. a. in

---

kaliumfreie Ringerlösung, so wird gar keine Glucose retiniert; auch nicht, wenn man 7,5 mg Uransalz nimmt. Ebenso wie bei Anwendung von K in der Ringerflüssigkeit handelt es sich auch bei Anwendung von Uran um eine optimale Dosis, bei der die Glucoseretention eine maximale ist. So ist es deutlich, daß Uran imstande ist, sowohl Glucosurie hervorzurufen wie auch zu bekämpfen. Es wäre interessant, diese Annahme noch näher experimentell zu prüfen. Ähnlich wie bei der Einverleibung von Uran beobachtete man, daß bei Einverleibung von CaCl Glucosurie sowohl hervorgerufen (Underhill und Closson, l. c.) wie unterdrückt werden kann. Kahn sah nach intravenöser Injektion von $CaCl_2$ bei Diabetes eine günstige Beeinflussung der Glucosurie (Arch. f. int. Med., Chicago, **10**, 1916; zit. aus Physiological Abstracts **1**, 472).

der Unterhaltung einer geringen Alkalizität der Körperflüssigkeit, die sonst der fortwährenden Säurebildung zufolge in eine saure Reaktion übergehen würde. Es wirkt ebenso wie das Natriumphosphat und das Natriumproteid des Serums als Puffer; man spricht auch von Tampon (Fernbach und Hubert), Regulator (Michaelis) oder Moderator (Spiro). Weiter muß man vielleicht noch eine spezifische HCO'_3-Wirkung annehmen [E. Laqueur][1]).

Bereits aus theoretischen Überlegungen geht hervor, daß eine 0,01 %ige $NaHCO_3$-Lösung zu wenig konzentriert ist, um in genügendem Maße als Puffer dienen zu können. Wir kommen später im Zusammenhang mit mehr theoretischen Betrachtungen hierauf zurück.

Ringer selbst fügte 5 ccm einer 1 %igen $NaHCO_3$-Lösung zu 100 ccm Flüssigkeit hinzu. Tyrode gebrauchte eine noch höhere Konzentration, nämlich 0,1 % $NaHCO_3$. Von den meisten Autoren aber wird in der Vorschrift zur Bereitung von Ringerflüssigkeit 0,02 % $NaHCO_3$ angegeben[2]). Daß nun die bei Fröschen gebräuchliche $NaHCO_3$-Konzentration von 0,02 % in der Tat für die Nierendurchströmung zu gering ist, konnten wir auf experimentellem Wege folgenderweise feststellen.

Setzt man zu einer Durchströmungsflüssigkeit von der Zusammensetzung: NaCl 0,6 %, $NaHCO_3$ 0,02 %, KCl 0,01 %, $CaCl_2$ 0,0075 % ein wenig Neutralrot hinzu[3]), so wird die Farbe der Flüssigkeit Orangegelb (schwach alkalisch), was mit $[H^{\cdot}] = \pm 1{,}10^{-8}$ übereinstimmt; man muß dabei ausgekochtes aqua dest. anwenden und der Absorption von CO_2 vorbeugen. Es genügt nun, diese Flüssigkeit sehr kurze Zeit mit Luft zu schütteln oder durch ein kurzes Gummirohr zu führen, und die Farbe schlägt in Rosa um, was auf eine saure Reaktion von $[H^{\cdot}] \pm 1{,}10^{-7}$ hinweist. Ist man aber mit der Anfertigung vorsichtig, so gelingt es, die Reaktion dieser 0,02 % $NaHCO_3$ enthaltenden Ringerlösung schwach alkalisch zu halten. Wird

---

1) Laqueur und Verzar, Arch. f. d. ges. Physiol. **143**, 1911.

2) Vergleiche Bayliss, Principles of general Physiology **1916**, 211. Auch Zwaardemaker und seine Mitarbeiter gebrauchen für ihre Herzversuche 0,02 %.

3) Bekanntlich ist die Farbe dieses vitalen Indicators bei $[H^{\cdot}] = 1{,}10^{-7}$ rosa, bei $[H^{\cdot}] = 1{,}10^{-8}$ orangegelb und bei $[H^{\cdot}] = 1{,}10^{-9}$ gelb.

nun die Niere mit dieser Flüssigkeit durchströmt, so wird sie, nach der roten Farbe zu urteilen, die das Organ anzunehmen anfängt, sauer, und auch die in den Harn übergegangenen sauren Stoffwechselprodukte färben denselben nach einiger Zeit rot. Wir haben bei den Versuchen eine möglichst intensive Oxygenation herbeigeführt, um die sauren Stoffwechselprodukte möglichst weitgehend zu eliminieren, aber es gelang hierdurch nicht, die Reaktion des Harns neutral oder schwach alkalisch zu halten.

Wie steht es nun mit der Reaktion des normalen Froschharns?

Es ist nicht schwer, denselben zu bekommen. Man hat nur die Blasen auszudrücken. Es zeigt sich dann, daß der Harn schwach alkalisch reagiert.

Noch in anderer Weise kann man sich davon überzeugen.

Spritzt man 1 ccm einer gesättigten wässerigen Neutralrotlösung in den Rückenlymphsack eines normalen Frosches, so sieht man nach einer halben Stunde folgendes: Haut, Muskeln, Gehirn und Rückenmark sind rosa, Darm gelb und rosa, je nach Ort und Intensität der Peristaltik, aber der Harn ist gelb und besitzt also, sei es dann auch eine geringe, aber bleibende Alkalizität. Bei künstlicher Durchströmung mit 0,02 % $NaHCO_3$ enthaltender Ringerflüssigkeit aber geht nach einiger Zeit, wie bereits erwähnt, die alkalische Reaktion in eine saure über, was daran zu erkennen ist, daß die Farbe sich von gelb in rosa umwandelt. Wir ersehen also, daß der Pufferwert von 0,02 % $NaHCO_3$ zu gering ist, um den Harn schwach alkalisch zu halten, wie das beim normalen Froschharn der Fall ist.

Aber zu gleicher Zeit lehrten die Experimente, daß mit dem Sauerwerden des Harns das Retentionsvermögen der Nieren für Glucose erheblich abnimmt resp. ganz verschwindet.

Als Beispiel erwähnen wir hier folgenden Versuch:

Durchströmung von der Aorta aus mit einer Lösung von NaCl 0,6 %, $NaHCO_3$ 0,02 %, $CaCl_2$ 0,008 %, KCl 0,01 %, Glucose 0,098 %; Sättigung mit O_2; kein Gummirohr gebraucht. Die Durchströmungsflüssigkeit enthält Neutralrot und hat eine orange Färbung. Die erste Harnportion ist gelb und zeigt eine Reduktion von 0,06 %; eine spätere Portion ist rot und hat eine Reduktion von 0,09 %, mit anderen Worten:

nun der Harn sauer geworden ist, hat die Niere das Vermögen, Glucose zurückzuhalten, verloren.

Es war nun angebracht, den $NaHCO_3$-Gehalt der Durchströmungsflüssigkeit allmählich zu steigern. Derselbe wurde allmählich auf **0,090%** gebracht. Wir hatten nun also eine Durchströmungsflüssigkeit folgender Zusammensetzung: NaCl 0,6%, $NaHCO_3$ 0,090%, KCl 0,01%, Glucose $\pm$0,1% und sollten für die Flüssigkeit die passende $CaCl_2$-Konzentration suchen. Die folgende Tabelle enthält die Resultate dieser Versuche.

Tabelle VI.

Einfluß der Steigerung der $NaHCO_3$-Konzentration.

Juni bis Juli 1917.

$CaCl_2$ %	Reduktion der Durchströmungsflüssigkeit %	Reduktion des Harns %	Glucoseretention %	Farbe des Harns[1] %
0,010	0,100	0,098	0,020	farblos
0,010	0,105	0,080	0,025	farblos
0,011	0,105	0,080	0,025	farblos
0,012	0,115	0,062	**0,053**	hellgelb
0,012^5	0,100	0,040	**0,060**	hellgelb
0,012^5	0,10	0,041	**0,059**	gelb
0,013	0,115	0,058	**0,057**	gelb
0,014	0,115	0,064	**0,051**	grüngelb
0,014	0,111	0,052	**0,059**	gelb
0,015	0,105	0,042	**0,063**	hellgelb
0,015	0,105	0,026	**0,079**	hellgelb
0,015	0,105	0,031	**0,074**	hellgelb
0,015^5	0,115	0,102	0,013	farblos
0,016	0,115	0,10	0,005	sehr hellgelb
0,016	0,115	0,091	0,024	farblos
0,017^5	0,10	0,089	0,011	farblos
0,020	0,102	0,090	0,022	erst hellgelb, später farblos
0,022^5	0,098	0,075	0,023	farblos
0,025	0,098	0,080	0,018	farblos

Zunächst sieht man, daß jetzt eine viel größere Glucosemenge zurückgehalten wird, als es bis jetzt der Fall war. Die Menge beträgt in einem Fall selbst 0,079%; doch dafür ist denn auch eine Konzentration von $CaCl_2$ von 0,014 bis 0,015% nötig. Unterhalb dieser Konzentration und drüber wird wenig zurückgehalten. Die für die maximale Glucoseretention notwendige $CaCl_2$-Konzentration ist also gestiegen von 0,0075%

[1]) Auf die Bedeutung dieser Spalte kommen wir unten (S. 126) noch zurück.

(vgl. Tabelle III und VI) auf 0,012 bis 0,015%. Es kann uns das nicht wundern; wird ja die Konzentration von $Ca^{··}$-Ionen durch $NaHCO_3$ zurückgedrängt, und den $Ca^{··}$-Ionen muß ein bedeutender Einfluß zuerkannt werden. Man darf also sagen, daß durch Steigerung des $NaHCO_3$-Gehalts die maximale Glucoseretention von 0,03% auf durchschnittlich 0,06% gestiegen ist.

Fernere Steigerung der $NaHCO_3$-Konzentration.

Jedoch sind wir beim erwähnten Steigerungsgrad der $NaHCO_3$-Konzentration nicht geblieben. Veranlassung dazu war das Resultat von Alkalizitätsbestimmungen des Froschserums.

Zu diesem Zwecke wurde Froschserum mit $^{n}/_{25}$-Weinsäure nach der Methode von Snapper[1]) titriert, mit Neutralrotpapier als Indicator. Es stellte sich heraus, daß für 1 ccm durch Defibrinieren erhaltenes Froschserum 0,85 ccm

Tabelle VII.

Einfluß einer ferneren Steigerung des $NaHCO_3$-Gehaltes.
Juli 1917.

$CaCl_2$ %	Reduktion der Durchströmungsflüssigkeit %	Reduktion des Harns %	Glucoseretention %
0,014	0,145	0,130	0,015
0,014	0,091	0,076	0,015
0,015	0,091	0,038	0,055
0,015	0,092	0,027	0,065
0,016	0,088	0,066	0,022
0,016	0,091	0,056	0,035
0,017	0,098	0,042	0,056
0,017	0,091	0,040	0,051
0,018	0,098	0,052	0,046
0,018	0,125	0,040	0,085
0,019	0,125	0,035	0,090
0,020	0,106	0,031	0,075
0,021	0,105	0,029	0,076
0,022	0,105	0,045	0,046
0,024	0,105	0,035	0,070
0,025	0,105	0,031	0,074
0,026	0,105	0,053	0,052
0,028	0,105	0,050	0,055
0,030	0,115	0,062	0,053
0,032	0,115	0,050	0,057
0,040	0,115	0,041	0,074

[1]) J. Snapper, diese Zeitschr. 51, 88, 1913.

Weinsäure nötig war. Die Titrationsalkalizität entsprach also der einer 0,034 %-Normal- oder 0,285 %igen $NaHCO_3$-Lösung. Deshalb wurde eine Ringerflüssigkeit mit dem entsprechenden $NaHCO_3$-Gehalt angefertigt. Da die Steigerung von 0,090 % zu 0,285 % sehr bedeutend war, wurde, um eine allzu große Erhöhung des osmotischen Druckes zu vermeiden, der NaCl-Gehalt zu 0,5 % herabgesetzt. Weiter lag es auf der Hand, daß auch die $CaCl_2$-Konzentration gesteigert werden sollte, da die Konzentration der freien Ca-Ionen aufs neue zurückgedrängt werden würde. Das Resultat ersieht man in Tabelle VII.

Wie ersichtlich, fängt die maximale Glucosemenge an, zurückgehalten zu werden, bei $CaCl_2$ 0,015 %; diese Konzentration liegt also noch etwas höher, als wenn 0,090 % $NaHCO_3$ gebraucht wurde (in diesem Falle nämlich war, wie aus Tabelle VI hervorgeht, die erforderliche Konzentration von $CaCl_2$ 0,012 %).

Inzwischen stellt sich in der Tabelle VI heraus, daß, wenn man den Gehalt an $CaCl_2$ oberhalb 0,015 % steigern läßt, die Glucoseretention abzunehmen anfängt. In Tabelle VII dagegen, wo ein höherer $NaHCO_3$-Gehalt gebraucht wurde, nämlich 0,285 % statt 0,098 %, wurde diese Erscheinung nicht beobachtet; sogar wenn der $CaCl_2$-Gehalt zu 0,04 % steigt, bleibt die Glucoseretention noch ziemlich unverändert hoch, im Mittel 0,07 %. Man wird geneigt sein, anzunehmen, daß dies dadurch erfolgt, daß im letzteren Fall die günstigste $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionenkonzentration sich automatisch einstellt. In der Tat, wenn durch eine Ringerflüssigkeit, die 0,285 % $NaHCO_3$ und 0,04 % $CaCl_2$ enthält, einige Zeit Sauerstoff durchgeleitet wird, so entsteht ein Niederschlag von $CaCO_2$[1]). Die folgende physikalisch-chemische Betrachtung verdeutlicht den Zustand.

$$\frac{[Ca^{\cdot\cdot}]\,[HCO_3{}']^2}{H_2CO_3} = K, \quad \text{oder} \quad \frac{[Ca^{\cdot\cdot}]\,[HCO_3{}']}{[H^{\cdot}]} = K_2.$$

Diese Formel besagt, daß die Konzentration der freien $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionen lediglich von der Konzentration der $H^{\cdot}$- und der

[1]) Wir haben gelegentlich der Ultrafiltration von Blutserum wiederholte Male konstatiert, daß das wasserklare farblose Ultrafiltrat durch Schütteln mit Luft trübe wurde durch die Abscheidung von $CaCO_3$, das durch CO_2 in Lösung gehalten war.

HCO_3'-Ionen abhängig ist, oder auch, daß die Menge des Ca-Salzes gleichgültig ist, wenn [H˙] und [HCO_3'] einen bestimmten zweckmäßigen Verhältnisgrad besitzen. Wir sehen also, daß in der genannten Flüssigkeit eine Art Puffersystem für Ca˙˙-Ionen bestehen muß.

Um noch einmal zu wiederholen: Für die Unterhaltung einer guten Ca˙˙-Ionenkonzentration ist nicht nur die HCO_3-Ionenkonzentration, sondern auch die H˙-Ionenkonzentration von Bedeutung. Eine zweckmäßige Regulierung der H˙-Ionenkonzentration ist unter unseren Umständen, wo für ein gutes Funktionieren der Nieren die Flüssigkeit mit O_2 gesättigt sein muß, nicht so einfach und erfordert noch eine eingehende Untersuchung.

Eine experimentelle Bestätigung unserer Vorstellung ergab sich noch durch Bestimmung des elektrischen Leitvermögens des Systems $NaHCO_3$ und $CaCl_2$; darüber in einer folgenden Mitteilung.

Indessen ist in der Ringerflüssigkeit der Zustand mehr kompliziert als im System $CaCl_2$ und $NaHCO_3$, insbesondere dadurch, daß in der Flüssigkeit eine nicht unbedeutende Menge NaCl vorhanden ist. Dadurch wird die Bestimmung des Gehalts der freien Ca-Ionen ziemlich kompliziert. Es scheint, daß das Gleichgewicht des für das Leben so wichtigen Systems $CaCl_2$ — $NaHCO_3$ bis jetzt nicht studiert worden ist. Wir beabsichtigen später auf diesen Gegenstand zurückzukommen. Jedenfalls aber haben wir jetzt eine Durchströmungsflüssigkeit bekommen, in der von den 0,1 % Glucose im Mittel 0,07 % zurückgehalten wird und in der sich automatisch die dafür nötige Ca˙˙-Ionenkonzentration einstellt.

Es erhob sich jetzt die Frage, ob im Gegensatz zu der früheren Erfahrung es gelingen würde, jetzt einen zuckerfreien Harn zu bekommen. Man wird sich zunächst erinnern, daß aus einer 0,1 %igen Glucoselösung früher höchstens 0,03 % zurückgehalten werden konnte, aber daß auch dieselbe Ringerflüssigkeit, wenn sie 0,03 % Glucose enthielt, keinen zuckerfreien Harn lieferte. Würden wir jetzt mit der neuen $NaHCO_3$-reichen Ringerlösung einen glucosefreien Harn bekommen können?

Nach Bang[1]) gibt das Froschblut eine Reduktion, die mit 0,03 bis 0,05 % Glucose übereinstimmt. Dementsprechend wurde im September 1917 von uns ein Reduktionswert von 0,04 bis 0,06 % gefunden. Es fragte sich nun: wird die Niere imstande sein, aus einer $NaHCO_3$-reichen Ringerlösung, die mit 0,05 % Glucose beschickt ist, allen Zucker zurückzuhalten? Das gleichlautende Resultat von 10 Versuchen war, daß dies in der Tat der Fall ist: der Harn war zuckerfrei.

Die sämtliche Glucose wurde sogar noch zurückgehalten, wenn die Ringerflüssigkeit 0,07 % dieser Substanz enthielt.

Es wird nun von Interesse sein, zu untersuchen, zu welcher Höhe die Hyperglykämie geführt werden kann, bevor Glucosurie auftritt, oder anders ausgedrückt: wo die Toleranz der Nieren für Zucker gelegen ist.

Für eine richtige Beantwortung dieser Frage ist es nötig, den Zuckergehalt des normalen Froschserums in der betreffenden Saison zu kennen. Denn auf die Konzentration der Blutflüssigkeit und nicht auf die des Blutes im ganzen kommt es hier an.

Insoweit uns bekannt, hat man bis jetzt nur den Zuckergehalt des Gesamtblutes ermittelt; nur wenn der Zucker gleichmäßig über Blutkörperchen und Serum verteilt ist, darf man den Zuckergehalt des Blutplasmas dem des Gesamtblutes gleichsetzen. Wenn dagegen die Blutkörperchen des Frosches keinen Zucker enthalten, so muß der Glucosegehalt des Serums höher angeschlagen werden. Aus diesem Grunde sind über die Zuckerverteilung im Froschblut im hiesigen Laboratorium viele Versuche angestellt worden, über die noch weiter berichtet werden wird. Sie haben ergeben, daß die Blutkörperchen im zirkulierenden Froschblut zuckerfrei sind und daß der Glucosegehalt des Serums (Plasmas) variiert zwischen 0,045 und 0,075 %. Eine wirklich physiologische Ringerlösung, die mit 0,07 % Glucose beschickt ist, muß also einen zuckerfreien Harn liefern, was in der Tat zutrifft.

---

[1]) J. Bang, Der Blutzucker, 1913, S. 33.

VIII. Noch einige Bemerkungen über das Kalium.

Die unter V beschriebenen Versuche führten zu der Schlußfolgerung, daß K in der Durchströmungsflüssigkeit entbehrt werden konnte. Wurde aber K hinzugefügt, so sollte das Verhältnis zum Calcium innerhalb gewisser Grenzen bleiben. Als Reagens diente das Vermögen der Nieren, Glucose zurückzuhalten, und zwar 0,03 %, d. h. die maximale Menge, die damals überhaupt zurückgehalten werden konnte (Tabelle IV und II). Nachher wurde dann gefunden, daß bei einer zweckmäßigeren Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit eine viel größere Zuckerretention erzielt werden konnte (Tabelle VI und VII). Es war nun von Interesse, zu untersuchen, ob auch in dieser Ringerflüssigkeit, in der nämlich der $NaHCO_3$- und Ca-Gehalt gesteigert war, das K ebenfalls zu entbehren war. Diese Versuche wurden Anfang Februar 1918 ausgeführt.

So wurde dann mit folgender Flüssigkeit durchströmt: NaCl 0,5 %, $NaHCO_3$ 0,285 %, $CaCl_2$ 0,20 %. KCl wurde nicht hinzugesetzt.

Reduktion der Durchströmungsflüssigkeit 0,12 %, Reduktion des Harns 0,04 %; also Glucoseretention 0,8 %.

Auch hier ergibt sich demnach die Entbehrlichkeit des Kaliums für das Vermögen der Nieren, Glucose zurückzuhalten.

Ähnliches war der Fall, wenn die Hälfte der normalen KCl-Menge, d. h. 0,005 %, hinzugefügt wurde, eine Menge, die früher (Tabelle IV) schädlich wirkte.

Versuch.

Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit: NaCl 0,5 %, $NaHCO_3$ 0,285 %, $CaCl_2$ 0,20 %, KCl 0,005 %. Reduktion der Durchströmungsflüssigkeit 0,122 %, Reduktion des Harns 0,03 %, Glucoseretention also **0,092** %.

Ein anderer Versuch, in dem die früher gebrauchte KCl-Menge statt halbiert verdoppelt wurde, ergab abermals einen günstigen Effekt auf die Glucoseretention.

Versuch.

Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit: NaCl 0,5 %, $NaHCO_3$ 0,285 %, $CaCl_2$ 0,20 %, KCl 0,020 %. Reduktion der Durchströmungsflüssigkeit 0,115 %; der Harn ist absolut glucosefrei; Glucoseretention also **0,115** %.

Man darf aus diesen Versuchen schließen, daß die Niere ihr Vermögen, Glucose zurückzuhalten (jedenfalls innerhalb der Versuchsdauer), behält, nicht nur, wenn die Durchströmungsflüssigkeit kaliumfrei ist, sondern auch, wenn K-Mengen hinzugefügt werden, die sonst das Glomerulusepithel für Zucker durchgängig machen. Mit „sonst“ meinen wir den Fall, daß wie in Tabelle II und IV der $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionengehalt infolge einer zu geringen Alkalizität der Flüssigkeit zu groß ist und eine Balancierung mit K erfordert. Ist aber eine genügende $NaHCO_3$-Menge vorhanden (0,285 %), so ist von einem Übermaß von $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionen und demnach von der Notwendigkeit einer Balancierung dieses Übermaßes nicht mehr die Rede. (Man vergleiche über Balancierung Loeb, Lillie, Osterhout, Zwaardemaker u. a.)

Es drängen sich hier verschiedene Gedanken auf, die aber noch einer vielseitigen experimentellen Kontrolle bedürfen. Zunächst ist man geneigt, an das Coma diabeticum bzw. an die Erscheinung der schweren Acidosis zu denken. Es scheint wohl sichergestellt, daß in diesem Zustande die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration nicht gesteigert ist, wohl aber ist die Alkalizität und also die HCO_3'-Ionenkonzentration beträchtlich erniedrigt. Faßt man die Beziehung $Ca^{\cdot\cdot} = K \cdot \frac{H^{\cdot}}{HCO_3'}$ ins Auge, so sieht man, daß in diesem Falle die Konzentration der freien $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionen gesteigert sein muß.

Jetzt ist eine Balancierung mit K-Ionen nötig geworden.

Die übliche Therapie der Acidosis besteht teilweise darin, daß man möglichst viel Alkali, und zwar $NaHCO_3$, in den Organismus einführt.

Man fragt sich mit Hinsicht auf die Resultate der soeben genannten Kaliumversuche, ob es nicht empfehlenswert sein würde, statt $NaHCO_3$ jedenfalls teilweise $KHCO_3$ zu verabreichen.

Eine zweite therapeutische Maßnahme ist die bekannte Hafermehlkur. Nun enthält nach der Analyse von Bunge 1 kg getrocknetes Hafermehl 5 bis 6 g K_2O gegen 0,1 bis 0,4 g Na_2O. Auch hier führt man also relativ große K-Mengen ein.

Noch deutlicher ist in dieser Beziehung die neue Kartoffelkur von Mossé in Toulouse. Kartoffeln enthalten per kg Trockensubstanz nicht weniger als 20 bis 28 g K_2O gegen 0,3 bis 0,6 g Na_2O.

Ganz merkwürdig scheint im Zusammenhang mit unseren Experimenten folgende Tatsache.

Die Asche der normalen Pankreasdrüse besteht größtenteils aus Kaliumphosphat, und zwar enthalten 100 g Trockensubstanz ± 2,8 g K_2O und ± 0,04 g CaO. In der diabetischen Pankreasdrüse aber findet man

auf 100 g Trockensubstanz nur 1,9 g K_2O und 0,17 g CaO. Man sieht also, daß in der diabetischen Pankreasdrüse das K stark abgenommen hat, während der Ca-Gehalt gesteigert ist.

Weiter findet man im diabetischen Harn immer mehr K als im normalen Harn. Auch dies macht es wahrscheinlich, daß im Blute des Diabetikers der K-Gehalt (etwa als Kompensationsmaßregel) gesteigert sein werde. Solche K-Bestimmungen stehen noch aus. Stoklasa, der die eben genannten Tatsachen gefunden hat, sieht die Hauptbedeutung des K in der katalytischen Beschleunigung der Glucolyse. Unsere eigenen Untersuchungen lenken die Aufmerksamkeit mehr auf den Einfluß des K als auf die Permeabilität des Glomerulusepithels; da jedoch das glucolytische Enzym intracellulär tätig ist, lassen die beiden Gedanken sich sehr gut miteinander vereinigen.

Man vergleiche zu den hier angeführten Überlegungen J. Stoklasa: Das Brot der Zukunft, Gust. Fischer, Jena 1917, und A. Urbeanu: Die Gefahr einer an K-Verbindungen zu armen Ernährungsweise, Urban u. Schwarzenberg, Berlin und Wien 1916.

IX. Ein paar Schlußfolgerungen.

Die Tatsache, daß man durch Änderung der Zusammensetzung der Ringerflüssigkeit die chemisch-morphologische Struktur des Glomerulusepithels dermaßen beherrschen kann, daß es freien Zucker wohl oder nicht durchläßt, scheint uns von großem Interesse; denn jetzt ist es überflüssig geworden, zur Erklärung der physiologischen Glucoseretention anzunehmen, daß sich in der Blutflüssigkeit Stoffe befinden, die fast alle Glucose in kolloidaler Verbindung festhalten und daß mit anderen Worten darin die Ursache gelegen ist, daß der Zucker die Glomerulusmembran nicht passieren kann.

So steht man hier also vor einer neuen physiologischen Permeabilitätsform: Zellen, in casu das Glomerulusepithel, lassen wohl Salze durch, doch die ebenfalls krystalloide Glucose nicht[1]). Ohne Zweifel handelt es sich hier um eine zweckmäßige Regelung, denn in dieser Weise wird eine für die Ernährung nötige Substanz in der Zirkulation gehalten. Bis jetzt ist, insoweit wir wissen, eine derartige Permeabilitätsform nicht beobachtet. Freilich gibt es Zellen, die sowohl

---

[1]) In einer 1915 erschienenen Arbeit (Bioch. Journ. 9, 591, 1915) hat Brown Kollodionmembranen angefertigt, die eine ganz verschiedene Permeabilität für verschiedene anorganische Krystalloide zeigten.

Salze wie Glucose durchlassen; man denke an das Darmepithel und an Peritoneum und Pleura; auch findet man Zellen wie die roten[1]) und weißen Blutkörperchen, die keine Glucose durchlassen, aber auch keine Salze; jedoch Salze wohl und Glucose nicht, davon besteht unseres Wissens kein Beispiel.

Endlich wollen wir noch auf eine andere Erscheinung die Aufmerksamkeit lenken. Betrachtet man nämlich die Tabelle VI, so sieht man, daß, obgleich die Durchströmungsflüssigkeit mit Neutralrot beschickt war, meist ein farbloser Harn erhalten wurde. In diesen Fällen war das Neutralrot also durch das Glomerulusepithelium zurückgehalten worden. Daß der Harn in der Tat frei von Neutralrot war, geht aus der Tatsache hervor, daß weder Zusatz von Säure noch von Ätzkali Färbung zur Folge hatte. Wir dürfen also annehmen, daß, wenn die $NaHCO_3$-Konzentration eine genügende Größe besitzt, die Glomerulusmembran impermeabel für das kolloide Neutralrot ist. Beträgt der $NaHCO_3$-Gehalt nur 0,02 %, so wird nach einiger Zeit das Neutralrot durchgelassen, was daran erkennbar ist, daß der Harn rot gefärbt wird. Wie gesagt (vgl. u. a. S. 103 und Tabelle III), handelt es sich bei unsern Versuchen um ein Glomerulusprodukt und zwar aus nachstehenden Gründen, die jetzt zusammengefaßt werden können:

1. Unterbindung der V. porta renalis führt keine Änderung der Resultate herbei.

2. Schnellere Diurese ebensowenig.

3. Bei venöser Durchströmung unter dem angewandten Druck ($\pm$ 60 cm Wasser) bleibt jede Harnabsonderung (seitens der Tubuli) aus.

4. War die Glomerulusmembran für Glucose permeabel, so ergab die Durchströmungsflüssigkeit immer genau dieselbe Reduktion wie der künstliche Harn. Wären die Tubuli auch an der Absonderung beteiligt gewesen, so würde die genannte genaue Übereinstimmung wohl nicht immer bestanden haben.

Es scheint, daß unsere Versuche auch Licht werfen auf

[1]) Wie es scheint, sind beim Menschen, weniger beim Affen und noch weniger beim Hund, die roten Blutzellen zu einer gewissen Höhe permeabel für Blutzucker. Es sind darüber im hiesigen Institut Untersuchungen angestellt worden, über die an einer anderen Stelle berichtet werden wird.

den Widerspruch zwischen den Resultaten der Experimente von Gerzowitsch[1]) und denen von Höber[2]).

Gerzowitsch nämlich löste Neutralrot in der Ringerflüssigkeit, von der die Zusammensetzung aber nicht erwähnt ist, und enthielt bei arterieller Durchströmung, d. h. also durch die Aorta, ein „gefärbtes“ Glomerulusfiltrat; ob die Farbe rot war oder orangegelb, wird nicht mitgeteilt. Höber dagegen brachte bei normalen Fröschen Neutralrot in den Rückenlymphsack und beobachtete bei mikroskopischer Untersuchung des Kapselraumes ein „farbloses“ Glomerulusfiltrat.

Wahrscheinlich läßt sich dieser Widerspruch folgenderweise erklären: Gerzowitsch gebrauchte „eine für den Frosch physiologische Ringerlösung“; das wird wohl die übliche gewesen sein, die 0,02 % $NaHCO_3$ enthält und die, wie wir hervorhoben, einen sauren, also rosa gefärbten Harn gibt. Höber und Königsberg jedoch arbeiteten unter physiologischen Bedingungen; strömte ja durch die Frösche normales Blut. Wie bei unseren Versuchen war das von ihnen erhaltene Glomerulusfiltrat farblos, aber bei der Fortbewegung dieser Flüssigkeit durch die Röhrchen wurde es von durch das Tubulusepithel abgeschiedenem Neutralrot versehen. Es wäre das in Übereinstimmung mit der gelben Farbe des Harns, die wir erhielten, als unter nahezu physiologischen Bedingungen, d. h. wenn mit einer zweckmäßigen Ringerflüssigkeit durchströmt wurde.

Zusammenfassung.

1. Das Glomerulusepithel besitzt das Vermögen, Glucose zurückzuhalten.

2. Um diese Erscheinung zu verstehen, braucht man keinen so hohen Filtrationsdruck anzunehmen, wie das der osmotische Druckwert des retinierten Zuckers (und Eiweißes) erfordert. Die Anwendung des Transsudationsbegriffes macht die Annahme des in Wirklichkeit auch nicht vorhandenen hohen Filtrationsdruckes in den Glomeruluscapillaren überflüssig (S. 98 ff.).

3. Das Retentionsvermögen der Froschnieren für Glucose ist in sehr empfindlichem Maße von der chemischen Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit abhängig. Besteht dieselbe aus der gebräuchlichen Ringermischung: NaCl 0,7 %, $NaHCO_3$ 0,2 %, KCl 0,01 % und $CaCl_2$ 0,0075 %, so wird von der in der Flüssigkeit auf-

[1]) Gerzowitsch, Zeitschr. f. Biologie **66**, 301, 1916.

[2]) Höber und Königsberg, Arch. f. d. ges. Physiol. **108**, 324, 1905.

gelösten 0,1 % Glucose maximal 0,03 % zurückgehalten. Man hat nur den $CaCl_2$-Gehalt auf 0,005 % oder auf 0,015 % zu bringen, und der künstliche Harn besitzt denselben Zuckergehalt wie die Durchströmungsflüssigkeit, d. h. es wird keine Spur Glucose retiniert.

Ähnliches beobachtet man, wenn bei gleichbleibendem $CaCl_2$-Gehalt bloß die KCl-Konzentration geändert wird. Mit $CaCl_2$ 0,0075 % und KCl 0,01 % erfolgt, wie gesagt, die maximale Glucoseretention; mit 0,015 % KCl absolut keine. Die Versuche lehren, daß für die Retention der maximalen Glucosemenge ein bestimmtes Verhältnis zwischen K und Ca und eigentlich auch für Na erfordert wird.

Der absolute Wert der hier angeführten Zahlen ist in den verschiedenen Jahreszeiten nicht derselbe.

4. Bemerkenswert ist, daß man dieselben Resultate bekommt, wenn das K durch Uranium oder Radium ersetzt wird, und zwar in äquiradioaktiven Dosen, nicht in chemisch äquivalenten Verhältnissen.

Bestrahlung mit Mesothorium kann ebenfalls das Kalium ersetzen.

5. Eine bedeutende Verbesserung der Glucoseretention kann man erhalten, wenn in der genannten „optimalen" Durchströmungsflüssigkeit der $NaHCO_3$-Gehalt von 0,02 % auf 0,090 % gesteigert wird.

6. Einverleibung von Neutralrot lehrte, daß die Ursache dieser Erscheinung mit der Reaktion der Durchströmungsflüssigkeit zusammenhängt. Besitzt diese eine so geringe Alkalizität (einen so geringen Pufferwert), daß die alkalische Reaktion bei der Durchströmung leicht in eine saure umschlägt, so zeigt der gebildete Harn eine saure Reaktion, was sich dadurch kundgibt, daß derselbe rosa wird.

Mit der sauren Reaktion des Harns geht die Durchlässigkeit für Glucose Hand in Hand, mit anderen Worten: es wird dann keine oder nur sehr geringe Glucose zurückgehalten. Führt man aber den $NaHCO_3$-Gehalt auf 0,09 %, so bleibt der künstliche Harn alkalisch (dessen Farbe ist gelb), und es wird von der $\pm$0,1 % Glucose ungefähr 0,6 % zurückgehalten.

Um dieses günstige Resultat zu bekommen, muß aber auch

der Ca-Gehalt, von dem bis jetzt die optimale Quantität 0,0075$^0/_0$ betrug (Tabelle I), zu 0,012 bis 0,015$^0/_0$ gesteigert werden, jedoch nicht höher (Tabelle VI). Daß bei Steigerung des $NaHCO_3$-Gehalts eine Vermehrung von $CaCl_2$-Zusatz notwendig ist, kann nicht wundernehmen, da eine Zunahme des $NaHCO_3$-Gehalts ein Zurückdrängen der Dissoziation des $CaCl_2$ zur Folge hat und eine genügende Konzentration der $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionen von größter Bedeutung ist.

7. Noch mehr Glucose als 0,06$^0/_0$ kann die Niere zurückhalten, wenn man den $NaHCO_3$-Gehalt auf 0,285$^0/_0$ bringt, d. h. die Konzentration, die der Titrationsalkalizität von Froschserum entspricht. Aber dann muß auch wiederum mehr $CaCl_2$ hinzugefügt werden, nämlich wenigstens 0,015$^0/_0$.

8. Interessant ist, daß im Gegensatz zu den Versuchen mit 0,090$^0/_0$ $NaHCO_3$ (Tabelle VI), bei Anwendung von 0,285$^0/_0$ $NaHCO_3$ Zusatz von mehr $CaCl_2$ als 0,015$^0/_0$, sogar von viel mehr, die Retention nicht ungünstig beeinflußt (Tabelle VII). Man hat Grund anzunehmen, daß die optimale $Ca^{\cdot\cdot}$-Ionenkonzentration sich bei reichlichem Zusatz von $CaCl_2$ automatisch einstellt.

Die Ringerflüssigkeit hat im letzteren Fall, in dem von $+$0,1$^0/_0$ Glucose im Mittel 0,07$^0/_0$, zuweilen selbst alle Glucose zurückgehalten wurde, die folgende Zusammmensetzung: NaCl 0,5$^0/_0$, $NaHCO_3$ 0,285$^0/_0$, KCl 0,01$^0/_0$, $CaCl_2$ 0,020$^0/_0$.

In dieser Flüssigkeit kann das K entbehrt werden und wenn es vorhanden ist, ist eine genaue Balancierung zwischen K und Ca irrelevant. (Man vgl. Tabelle VIII.)

9. Enthält die soeben genannte Durchströmungsflüssigkeit 0,05$^0/_0$ Glucose, d. i. die mittlere Quantität, die im Froschserum vorkommt, so bekommt man einen zuckerfreien Harn. Letzteres war sogar der Fall, wenn die Ringerflüssigkeit 0,06 bis 0,012$^0/_0$ Glucose enthielt.

10. Dieses Resultat scheint uns interessant aus einem physiologisch-klinischen und aus einem allgemein biologischen Gesichtspunkt; aus einem physiologisch-klinischen, weil die Retention des sämtlichen Blutplasmazuckers durch die Nieren jetzt auf eine Permeabilitätserscheinung zurückgebracht worden

ist und also die freilich niemals streng bewiesene Annahme einer kolloidalen Bindung von Glucose durch einen der Serumbestandteile ganz überflüssig geworden ist. Offenbar beherrscht die chemische Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit den Zustand des Glomerulusepithels und damit die Permeabilität dieser Membran für Glucose.

Die Resultate verdienen Beachtung aus einem allgemein biologischen Gesichtspunkt, weil man sich hier vor eine neue Permeabilitätsform gestellt sieht, nämlich eine, bei der Zellen unter physiologischen Bedingungen, obgleich leicht permeabel für Salze, undurchlässig sind für die ja ebenfalls krystalloide Glucose, einer Permeabilitätsform, die bis jetzt nicht beobachtet wurde und im vorliegenden Fall als sehr zweckmäßig zu erachten ist.

Untersuchungen über die Hyperglykämie bei Injektion von Tetrahydro-β-Naphthylamin.

Von

José de Corral.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 8. März 1918.)

Wir wissen durch die Untersuchungen von Claude Bernard, daß der Stich im Boden des 4. Ventrikels beim Tiere eine von einer Glykosurie begleitete Hyperglykämie erzeugt. Beim Kaninchen erscheint nach Bang[1]) im Harn eine oder zwei Stunden nach dem Stich der Zucker, und seine Ausscheidung kann nur 1 Stunde dauern, aber meistens dauert sie 5 oder 6 Stunden und selten mehr als 24. Der Verlauf der Hyperglykämie ist nicht genau bekannt, aber es scheint, daß dieselbe rasch auftritt und ihr Maximum in 1 Stunde erreicht, ein Maximum, auf dem sie mehrere Stunden verharrt, um wieder rasch zu fallen. Aber sowohl die Intensität wie die Dauer der Wirkung des Stiches können beträchtlich variieren.

Es ist wahrscheinlich, daß, wenn wir das Zuckerzentrum auf eine andauerndere Art und Weise reizen könnten, wir auch Hyperglykämien und Glykosurien von längerer Dauer erhalten könnten. In Anbetracht des Interesses, das es hätte, experimentell eine wenigstens etwas andauernde Hyperglykämie zu erhalten, habe ich auf Anregung und mit Mithilfe von Prof. Asher einige Versuche gemacht, indem ich Kaninchen Chlorhydrat von Tetrahydro-β-Naphthylamin[2]) injizierte, eine Substanz, mit der man wahrscheinlich das Zuckerzentrum reizt. Die Substanz übt nach den Untersuchungen von Stern[3]), die

[1]) Bang, Der Blutzucker, Wiesbaden 1913, S. 97.

[2]) Um diesen Körper zu bezeichnen, werde ich von jetzt ab die Abkürzung T brauchen.

[3]) Stern, Virchows Archiv **115**, 14, 1889.

im Laboratorium von Filehne gemacht und von Jonescu[1]) und Fröhlich und Morita[2]) bestätigt worden sind, eine erregende Wirkung auf das zentrale sympathische und gleichzeitig auf das periphere Nervensystem aus.

Gleichzeitig mit meinem Bericht über diese Untersuchungen über die Wirkung dieser Substanz auf den Blutzucker und den Harn — Untersuchungen, die, obgleich sehr wenig zahlreich, ein gewisses Interesse bieten — werde ich auch andere in meinen Versuchen beobachtete Wirkungen des T, besonders seine Wirkungen auf den arteriellen Druck, beschreiben.

Die erste zu untersuchende Tatsache ist die, zu wissen, ob die Injektion von T eine Hyperglykämie oder eine Glykosurie irgendeiner Art hervorrufen kann.

Nach Jonescu erzeugt weder die intravenöse Injektion noch die subcutane dieses Körpers die Glykosurie. Eine Tatsache, die von Morita[3]) bei zwei Versuchen am Kaninchen und später von Schut[4]) beim Kaninchen und Meerschweinchen festgestellt worden ist.

In bezug auf die Hyperglykämie glaubt Schut in derselben Arbeit bewiesen zu haben, daß die intravenöse ebenso wie die intramuskuläre Injektion von T eine Zunahme der Glykämie hervorrufen; eine rasche Zunahme selbst nach der intramuskulären Injektion, die ihr Maximum 15 Minuten nach der Injektion erreicht, wenn sie intravenös ist, und 45 bis 95 Minuten nach der intramuskulären[5]).

Unglücklicherweise kann man den Untersuchungen von Schut[6]) über die Hyperglykämie keinen beweisenden Wert zugestehen, da der Forscher nicht die Möglichkeit ausgeschaltet hat, daß es ganz einfach eine psychische Hyperglykämie war, die durch die psychische Wirkung, die das T auf das Tier ausübt, hervorgerufen worden ist.

---

[1]) Jonescu, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 345, 1909.

[2]) Fröhlich und Morita, ibidem 78, 277, 1915.

[3]) Morita, ibidem 78, 245, 1915.

[4]) Schut, Beitr. z. Klinik d. Tuberkulose 35, 75, 1916.

[5]) Der Forscher sagt nichts über die angewandte Methode der Blutzuckerbestimmung.

[6]) Auch nichts über die Untersuchungen, durch die er eine Glykosurie bei Hühnern zeigt, denen er auch T injiziert hatte.

Schut begnügt sich tatsächlich, um diese letzte Hyperglykämie zu vermeiden, den von Bang[1]) erteilten Rat zu befolgen, Blut zur Blutzuckerbestimmung nur von Kaninchen zu nehmen, die schon an das Laboratorium gewöhnt sind. Mit dieser Vorsichtsmaßregel beweist Schut durch einige Versuche, daß die Blutentnahme aus einem Ohr keine Hyperglykämie erzeugt, und sicherlich soll die Reizung, die der Stich einer subcutanen oder intravenösen Injektion auf das Tier ausübt, nicht größer sein als die der Blutentnahme.

Aber das T übt eine wahre psychische Wirkung auf das Tier aus nach dem schon von Stern benutzten Ausdruck, und zwar eine beim Kaninchen sehr deutliche. Wenn die vom Tier erhaltene Dosis T nicht zu klein ist, zeigt dasselbe unter anderen Erscheinungen große Unruhe und Aufregung. Und wenn die Dosis genügend ist, zeigt es Krampferscheinungen, während welcher das Tier manchmal aussieht, als ob es eine wahre Furcht hätte. Schut sagt nichts über derartige Erscheinungen, die seine Tiere nach der Injektion von T hätten zeigen können; aber ich glaube nicht, daß man daraus schließen darf, daß sie nicht bei seinen Versuchen existierten, denn die angewandten Dosen lassen das Gegenteil vermuten.

Übrigens kann diese psychische Wirkung eine Hyperglykämie erzeugt haben nach dem, was man aus den Versuchen von Bang und Stenström über die Erstickungshyperglykämie schließen kann[2]). Diese Forscher haben gesehen, daß keine Form von Asphyxie beim Kaninchen eine Hyperglykämie erzeugen konnte, wenn man die Vorsicht benutzt, das Tier allmählich zu ersticken, indem man vermeidet, es aufzuregen. Wenn sich das Tier jedoch aufregt, tritt die Hyperglykämie immer auf.

Derselbe Einwand, den man den Beobachtungen von Schut entgegenstellen kann, läßt sich auch gegen die frühere Untersuchung von Morita (l. c.) machen, der 0,148% Zucker im Blut eines Kaninchens findet, dem er T injiziert hatte. Auch kennen wir noch nicht die Menge des Zuckers im Blut vor der Injektion.

Es bleibt also zu untersuchen, ob wirklich das T direkt,

[1]) Bang, Zeitschr. f. physiol. Chemie **88**, 44, 1913.

[2]) Bang und Stenström, diese Zeitschr. **150**, 449, 1913.

d. h. ohne die Vermittlung seiner psychischen Wirkung eine Hyperglykämie erzeugen kann.

Versuche.

In meinen Versuchen am Kaninchen habe ich das Chlorhydrat Tetrahydro-β-Naphthylamin benutzt, das ich der Güte der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel verdanke. Sein Schmelzpunkt beträgt nach den Bestimmungen, die wir im Institut gemacht haben, 241 bis 242°. Er ist etwas höher, als ihn Cloetta und Waser[1]) angegeben haben, was zugunsten der Reinheit unserer Substanz spricht.

Ich injizierte die in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöste Substanz in eine Ohrvene. Die Konzentration der Lösung war derart, daß ich die gewünschte Dosis injizieren konnte, indem ich 1 bis 1,5 ccm der Lösung injizierte. In den Fällen, in denen die Verdünnung eine andere war, werde ich es angeben.

Das zu analysierende Blut wurde gleichfalls durch Stich in eine Ohrvene gewonnen, nachdem man eine Gefäßerweiterung durch die Anwendung von Xylol oder Äther hervorgerufen hatte. Die Blutentnahme geschah manchmal unter schwierigen Verhältnissen, die von der Gefäßkontraktion der Ohrgefäße, die durch die Wirkung des T erzeugt wurde, herrührten.

Die Analysen des Blutzuckers wurden mit Hilfe der Mikromethode von Bang gemacht, wobei ich die in einer früheren Arbeit[2]) beschriebenen Einzelheiten befolgte. Ich habe im allgemeinen Doppelbestimmungen gemacht, von denen ich den mittleren Wert angeben werde. Ich erinnere hier daran, daß ich als Mittelwert der 94 von mir gemachten doppelten Blutzuckerbestimmungen einen Unterschied von 0,012 % Blutzucker zwischen zwei Bestimmungen erhalten habe, was eine interessante Tatsache zur Beurteilung der Genauigkeit meiner Resultate ist.

Der Zucker im Harn wurde mit der Fehlingschen Lösung im erhaltenen Filtrat untersucht, nachdem der Harn mit essigsaurem Blei behandelt worden war.

Das T erzeugt bei intravenöser Injektion selbst in einer Dosis von 0,003 g pro kg Gewicht, in der kleinsten Dosis, die ich injiziert habe, spätestens in 1 bis 3 Minuten eine Pupillenerweiterung und kurz danach eine Contraction der Ohrgefäße. Mit größeren Dosen habe ich manchmal einen merklichen Exophthalmus entstehen sehen.

Die Veränderung des allgemeinen Zustandes durch die Wirkung des T variiert nach der Dosis und auch nach dem Kaninchen. Wenn die Dosis genügt, zeigt das Tier kurze Zeit nach der Injektion — und manchmal sogar während derselben — eine große Unruhe und Auf-

---

[1]) Cloetta und Waser, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 73, 402, 1913.

[2]) Corral, Zeitschr. f. Biol. 1918.

regung und etwas Dyspnoe. Plötzlich nimmt letztere zu, ebenso wie die Unruhe, und das Tier bleibt — nachdem es manchmal einen großen Sprung gemacht hat — fast völlig steif, von allgemeinen tonischen Krämpfen ergriffen, wobei es Jammerschreie ausstößt. Nach einiger Zeit (2—10 Minuten), während der das Tier wie terrorisiert ist, treten anstatt der tonischen Krämpfe klonische Krämpfe der Extremitäten auf; aber nach und nach beruhigt sich das Tier wieder. Sehr häufig nehmen diese klonischen Krämpfe die von Stern beschriebene Form an, das Kaninchen „trommelt“, d. h. es klopft heftig gleichzeitig mit seinen beiden Hinterbeinen auf den Boden. Andere Male zeigt das Tier nur Dyspnoe, Unruhe und Aufregung, die sich durch Sprünge, die es gegen die Decke des Käfigs anstoßen läßt oder durch verschiedene Bewegungen, meistens die des Trommelns, kennzeichnen. Wenn die injizierte Dosis sehr klein ist, bleibt das Tier ganz ruhig.

Eine andere Erscheinung, die häufig die Krämpfe begleitet oder wenn das Kaninchen sehr aufgeregt ist, ist, daß es Harn und Fäces abgehen läßt.

Es ist schwer zu sagen, welche Dosis diese verschiedenen Erscheinungen hervorruft; denn das variiert mit den Kaninchen. Bei einem Kaninchen habe ich z. B. die schwersten Störungen mit 0,013 g T pro kg Körpergewicht erhalten, wohingegen es bei einem anderen mit 0,020 g pro kg nur eine große Unruhe und Aufregung gab.

Ich muß auch sagen, daß die Lösung des T frisch hergestellt sein muß. Mit einer 24 Stunden alten Lösung erzeugte die Injektion von 0,031 g pro kg nur Pupillenerweiterung und nicht die geringste Unruhe; und dasselbe Kaninchen zeigte an einem anderen Tage mit 0,020 g pro kg einer frischen Lösung eine starke Bewegung. Ich habe auch beobachtet, daß selbst nach intravenöser Injektion die Ausscheidung des T keine sehr rasche ist. Bei Kaninchen 4 erzeugt, wie man bei Versuch 4 sehen kann, die Injektion von 40 mg nur Unruhe, hingegen erzeugen 30 mg, 4 Std. 15 Min. später injiziert, sehr starke Krämpfe, von denen

Versuch 1.

Kaninchen Nr. 1. Gewicht 1500 g. Blutzucker vor der Injektion (Mittel von 3 Bestimmungen) 0,12 %.

Datum 1916	Injektion mg T	Zeit nach der Injektion Min.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Zeit nach der Injektion Min.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Zeit nach der Injektion Min.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Bemerkungen
7. Oktbr.	10	60	0,10	90	0,10	—	—	Das Tier bleibt ruhig.
8. „	20	50	0,18	70	0,12	—	—	Das Tier ist sehr unruhig u. hat starke Krämpfe.
9. „	10	—	—	—	—	—	—	Sehr ruhig.
10. „	10	35	0,12	85	0,13	6	0,14	Keine Glykosurie.

ich glaubte, daß ihnen das Tier erliegen würde. Ein anderes Mal erzeugte die Injektion von 20 mg keine Krämpfe, aber 25 mg, 6 Std. 15 Min. später injiziert, riefen sehr starke hervor. Wir wollen noch bemerken, daß die Injektion von 40 mg einmal keine hervorgerufen hat.

Wir wollen jetzt die Wirkung der Injektion des T auf den Blutzucker und Harn betrachten.

Versuch 2.

Kaninchen Nr. 2. Gewicht 2250 g.

Datum 1916	Injektion mg T	Zeit nach der letzten Injekt. Min.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Zeit nach der letzten Injekt. Min.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Zeit nach der letzten Injekt. Min.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Zeit nach der letzten Injekt.	Blutzucker % Mittel von 2 Bestimmungen	Bemerkungen
21. Nov.	110 (a)	30	0,15	65	0,14 (b)	75	0,16	2h15′	0,14	Starke Krämpfe.
22. „	Keine	—	0,16	—	—	—	—	—	—	
28. „	Keine	—	0,13	—	—	—	—	—	—	
29. „	105 (c)	40	0,18	65	0,15	75	0,19	—	—	Große Aufregung. Das Kaninchen hat keine Glykosurie.

(a) Man injiziert erstens 30 mg T, 10 Minuten nachher 30 mg und 10 Minuten nachher 20 mg. (Die Lösung war von 24 Stunden.) 40 Minuten nachher 30 mg in Lösung frisch vorbereitet. Das Kaninchen bleibt ruhig bei 5 Minuten nach der 4. Injektion.

(b) Eine einzelne Bestimmung von Blutzucker.

(c) Man injiziert erstens 45 mg, 27 Minuten nachher 60 mg. Die Aufregung erscheint seit der 1. Injektion.

Versuch 3.

Kaninchen Nr. 3. Gewicht 1300 g. Blutzucker 0,10% (Mittel von 2 Bestimmungen).

Datum 1916	Injektion mg T	Zeit nach der Injektion	Blutzucker % Mittel v. 2 Bestimmungen	Zeit nach der Injektion	Blutzucker % Mittel v. 2 Bestimmungen	Zeit nach der Injektion	Blutzucker % Mittel v. 2 Bestimmungen	Zeit nach der Injektion	Blutzucker % Mittel v. 2 Bestimmungen	Bemerkungen
6. Dez.	50	65′	0,14	2h 5′	0,10	2h 55′	0,10	3h 50′	0,09	Starke Krämpfe. Keine Glykosurie.

Durch die an den Kaninchen 1 und 3 gemachten Beobachtungen sehen wir, daß die Injektion des T in den Fällen, wo es Unruhe und Aufregung des Tieres erzeugt hat, es auch eine, wenn auch vorübergehende Steigerung des Blutzuckers hervorgerufen hat. Hingegen gab es in den Fällen, wo das Kaninchen 1 nach der Injektion ganz ruhig geblieben ist, keine Hyperglykämie.

Beim Kaninchen 2 machte ich keine Zuckeranalyse vor der Injektion des 21. November, und obgleich die Werte des Blutzuckers nach der Injektion etwas hoch sind, glaube ich nicht, daß es wirklich eine Hyperglykämie gab, da 24 Stunden später das Blut ein ähnliches Verhältnis an Zucker, 0,16 %, hatte. Hingegen ist beim folgenden Versuch eine Hyperglykämie nicht zweifelhaft; aber hier hatte auch eine psychische Erregung stattgefunden.

Im folgenden Versuch versuchte ich zu prüfen, ob auch durch Injektionen von T in mittleren Dosen, die mehrere Tage lang morgens und abends erneut wurden, eine Glykosurie oder auch eine etwas andauernde Hyperglykämie zu erhalten sei. Wurden dieselben durch psychische Erregung oder durch die direkte Wirkung des T hervorgerufen?

Versuch 4.

Kaninchen Nr. 4. Gewicht 2050 g. Blutzucker 0,09 % (Mittel von 2 Bestimmungen).

Datum u. Stunde der Injektion	Injektion von T	Zeit nach der Injektion	Blutzucker % Mittel v. 2 Bestimmungen	Zustand des Kaninchens nach der Injektion
23. Jan. 1917, 12h	10 mg	6h	0,09	Das Kaninchen bleibt ruhig.
23. „ 1917 6h	15 „	6h	0,08	Sehr unruhig und aufgeregt.
24. „ 1917 12h	10 „	—	—	Ruhig.
24. „ 1917 6h	20 „	—	—	Ruhig.
25. „ 1917 11h30′	40 „	4h 45′	0,10	Unruhig und aufgeregt.
25. „ 1917 3h45′	30 „	8h	0,11	So starke Krämpfe, daß man fürchten konnte, es würde unterliegen.
26. „ 1917 11h45′	20 „	—	—	Ruhig.
26. „ 1917 5h45′	25 „	—	—	Sehr starke Krämpfe.
28. „ 1917 6h	25 „	—	—	Unruhig, aber keine Krämpfe.

Bemerkung. Der Harn, untersucht vom 23. ab bis 29. Januar, hat nie Zucker gehabt.

Die Resultate waren, wie man sieht negativ, und zwar, obgleich man giftige Akkumulationserscheinungen beobachtet hat und obgleich die injizierten Dosen so groß waren, daß das Tier ihnen nicht widerstehen konnte.

Bei den Versuchen an den anderen Kaninchen beobachtete ich ebenfalls niemals Glykosurie.

Trotz dieser Versuche bleibt noch die Frage offen, zu wissen, ob das T, wenn auch nur vorübergehend, direkt eine Hyperglykämie erzeugen kann. Denn es könnte gut sein, daß, wenn in meinen Untersuchungen sie sich nicht in den Fällen gezeigt hat, wo es weder Unruhe noch Aufregung gegeben hat, es einfach daher kam, daß die inji-

zierten Dosen in diesen Fällen zu klein waren, um diese Hyperglykämie zu erzeugen.

Um dem Tier größere Dosen T zu injizieren, ohne daß dieselben Krämpfe und Unruhe hervorrufen, haben wir die Injektion am curarisierten und mit Urethan und Äther anästhesierten Tier gemacht.

Versuch 5.

Kaninchen Nr. 5. Gewicht 1700 g. Blutzucker 0,10 % (Mittel von 2 Bestimmungen). Urethannarkose (1 g pro kg), 45 Minuten nachher Äthernarkose. Tracheotomie. Man bringt eine Kanüle in die Vena jugularis interna dextra hinein und eine andere in die Carotis communis sinistra. Die letzte in Verbindung mit dem Quecksilbermanometer. Injektion von Curarelösung in diese Vena. Der Blutdruck sinkt stark herab. Künstliche Atmung. 15 Minuten nachher (25 nach der Äthernarkose) ist der Blutzucker 0,12 % (Mittel von 2 Bestimmungen). Injektion von 180 mg T verdünnt in 5 ccm Salzlösung. Der Blutdruck sinkt sofort sehr stark herab, und das Tier stirbt.

Versuch 6.

Kaninchen Nr. 6. Gewicht 1500 g. Blutzucker 0,11 % (Mittel von 2 Bestimmungen). Um 10^h Urethannarkose (1 g pro kg). 45 Minuten nachher Äthernarkose. Tracheotomie. Kanüle in die Vena jugularis interna dextra und in die Carotis communis sinistra. Die letzte verbunden mit dem Hg-Manometer. Um 10^h 55′ intravenöse Einspritzung von Curare. Künstliche Atmung.

Zeit Std. Min.	Injektion	Blutdruck in mm Hg	Blutzucker % (Mittel v. 2 Bestimmungen)
10 57		55	
11 00		56	0,17
11 3	} 30 mg T in 1 ccm	55	
11 4		20	
11 9		45	
11 15		47	0,16
11 25	} 9 „ „ 0,3 „	46	
11 26		36	
11 27		90	
11 35	} 3 „ „ 1 „	70	
11 36		55	
11 37		70	
11 40	} 3 „ „ 1 „	71	
11 41		50	
11 42	} 3 „ „ 1 „	60	
11 43		45	
11 44	} 3 „ „ 1 „	60	
11 45		60	0,16
12 00		55	0,19
12 5	} 3 „ „ 1 „	55	
12 6		25	

Zeit Std. Min.	Injektion	Blutdruck in mm Hg	Blutzucker % (Mittel v. 2 Bestimmungen)
12 9	6 „ „ 2 „	26	
12 10		25	0,22
12 20		26	
12 23	0,06 „ von Adrenalin (3 ccm)	25	
12 23,5		65	
12 24		110	
12 30		55	0,20 (a)

Bemerkungen. Man untersucht nicht den Harnzucker. Der T war injiziert in die Vena jugularis. — (a) Eine einzelne Bestimmung von Blutzucker.

Wir beobachten zuerst in diesen beiden Versuchen, daß die Narkose nicht die Hyperglykämie des Curare verhindert. Nach den Untersuchungen von Bang[1]) zeigt nach einer Narkose von Urethan und Äther das Kaninchen tatsächlich keine nervöse Hyperglykämie, sondern nur eine Hyperglykosurie infolge der Narkose, die zur Zeit des Beginns der Narkose mit Äther oder noch später anfängt. Und hier weisen 2 Kaninchen viel früher eine Zunahme des Blutzuckers auf, was man dem Curare zuschreiben muß. Dies hat ein Interesse, weil, da die Hyperglykämie infolge von Curare von einigen Forschern als eine Art von asphyktischer Hyperglykämie[2]) angesehen worden ist, man sich fragen könnte, ob es nicht eine psychische Hyperglykämie sei, die durch die Narkose vermieden würde.

Wir sehen auch bei Kaninchen 6, daß die Hyperglykämie infolge von Curare sich auf derselben Höhe hält, trotz der Injektionen des T. Die Zunahme des Blutzuckers, die man von der 12. Stunde an beobachtet, wird wahrscheinlich durch das Erscheinen der Hyperglykämie infolge von Narkose hervorgerufen. Und eine Injektion von Adrenalin erzeugt in der beobachteten Zeit keine Veränderung im Blutzucker.

Bei zwei anderen Versuchen haben wir dem nichtcurarisierten Kaninchen T injiziert, das aber auch mit Urethan und Äther narkotisiert war.

Versuch 7.

Kaninchen Nr. 7. Gewicht 1950 g. Blutzucker vor der Narkose 0,15% (Mittel von 2 Bestimmungen). Um 2 Uhr 25 Min. injiziert man Urethan (1 g pro kg). Um 3 Uhr 5 Min. Äthernarkose. Operation wie in den vorigen Versuchen. Keine Injektion von Curare.

---

[1]) Bang, diese Zeitschr. 58, 236, 1914.

[2]) Siehe Lépine, Le diabète sucré. Paris 1909, S. 317.

Zeit Std. Min.	Injektion[1])	Blutdruck in mm Hg	Blutzucker % (Mittel von 2 Bestimmungen)	Bemerkungen
3 33		90	—	
3 34	10 mg T	90	—	
3 35	(in 1 ccm)	60	—	
3 36		80	—	
3 37		97	—	
3 38		105	—	
3 45		105	0,20	
3 50		93	—	
3 55	15 mg T	93	—	
3 56	(1,5 ccm)	50	—	
3 57		90	—	
3 58		100	—	
4 3		104	0,23	
4 8		101	—	
4 18		94	—	
4 28		93	—	
4 32	20 mg T	93	—	Das Kaninchen erwacht, ist
4 33	(2 ccm)	60	—	etwas unruhig und stöhnt von Zeit zu Zeit.
4 34		55	—	
4 35		75	—	
4 36		88	—	Das Kaninchen ist ruhig.
4 37		91	—	
4 40		92	0,22	Man untersucht nicht den
4 48		92	0,26[2])	Harnzucker.

Versuch 8.

Kaninchen Nr. 8. Gewicht 1850 g. Blutzucker vor der Narkose 0,10% (Mittel von 2 Bestimmungen). Urethan (1 g pro kg) um 1 Uhr 55 Min. Um 2 Uhr 35 Min. etwas Äther. Operation wie in den vorigen Versuchen. Keine Injektion von Curare.

Zeit Std. Min.	Injektion[3])	Blutdruck in mm Hg	Blutzucker % (Mittel von 2 Bestimmungen)	Bemerkungen
3 23		105	—	
3 25		98	0,13	
3 36	5 mg T	98	—	
3 37	(in 0,5 ccm)	74	—	
3 40		95	—	
3 43	10 mg T	95	—	
3 44	(1 ccm)	67	—	
3 45		68	0,17	
3 49		89	—	

[1]) In die Vena jugularis.
[2]) Eine einzelne Bestimmung von Blutzucker.
[3]) In die Vena jugularis.

Zeit Std. Min.	Injektion[1])	Blutdruck in mm Hg	Blutzucker % (Mittel von 2 Bestimmungen)	Bemerkungen
3 55	20 mg T (2 ccm)	81	—	Das Kaninchen erwacht, macht einige Bewegungen und stöhnt.
3 56		53	—	
3 57		48	—	
4 0		65	0,15	
4 18	30 mg T (2 ccm)	65	—	Das Kaninchen macht einige Bewegungen und bleibt etwas unruhig.
4 19		44	—	
4 20		65	—	
4 21		70	—	
4 22		84	0,16	
4 28		62	—	Man untersucht nicht den Harnzucker.

In diesen beiden Versuchen sehen wir, daß der Blutzucker nach den Injektionen des T zunimmt und einen Wert erreicht, auf dem er sich erhält. Man könnte dennoch dem T irgendeine Wirkung bei dieser Zunahme des Zuckers absprechen. Es könnte sein, daß die beobachtete Hyperglykämie nur eine Hyperglykämie infolge der Narkose sei, und tatsächlich sieht man im letzten Versuch, daß der Zucker schon vor der Injektion des T zugenommen hat.

Ohne diese Möglichkeit zu leugnen, halte ich sie für unwahrscheinlich, und ich glaube, daß die beobachtete Hyperglykämie teilweise vom T erzeugt worden ist. Zwei charakteristische Eigenschaften der Hyperglykämie infolge von Narkose lassen sich nach Bang beobachten, daß sie, wie oben erwähnt, sehr spät auftritt und sehr langsam zunimmt. Und hier im letzten Versuch sehen wir, daß der Blutzucker in 20 Minuten von 0,13 % auf 0,17 % steigt. Und in dem ersten — bei dem ich keine Blutanalysen während der Narkose vor der Injektion gemacht habe — sehen wir, daß 40 Minuten nach der Äthernarkose der Blutzucker 0,20 % beträgt und 10 Minuten später 0,23 %; sein Wert vor der Narkose war 0,15 %.

Ich möchte die Aufmerksamkeit auf die wichtige Tatsache lenken, die in diesen beiden Versuchen nach der Injektion einer bestimmten Menge T beobachtet wurde, nämlich, daß das gut narkotisierte Tier teilweise aufwacht, indem es Schreie ausstößt und sich bewegt. Und zwar zur selben Zeit, in der man die Injektionen machte.

Das ist eine weitere Tatsache zu der von Airita[2]) beobachteten. Dieser Forscher fand, daß Gifte, die wirken, indem sie das zentrale sympathische Nervensystem reizen — wie das T und das Ephredin — imstande sind, einen leichten Schlaf in Chloroformnarkose zu unter-

---

[1]) in die Vena jugularis.

[2]) Airita, Arch. int. de Pharm. et de Thérapie 23, 453, 1913.

brechen. Morita[1]) hat dasselbe beim enthirnten Kaninchen gefunden, woraus er folgert, daß der Angriffspunkt dieser Substanz infracortikal ist.

Die Wirkungen des T auf den arteriellen Druck in unseren Versuchen sind folgende gewesen:

Beim Kaninchen Nr. 5, das curarisiert war, sehen wir, daß auf die Injektion einer beträchtlichen Dosis T eine Verminderung des Druckes folgt, die das Tier sofort tötet. Bei Nr. 6, ebenfalls curarisiert, sehen wir, daß auf jede Injektion, außer der 6. und 8., eine beträchtliche Senkung des Druckes folgt, eine vorübergehende Senkung, auf welche manchmal eine Steigerung folgt. Nach der 7. Injektion steigt der Blutdruck nicht mehr, und eine neue Injektion bleibt wirkungslos. Und trotzdem blieb der Sympathicus in diesem Versuch erregbar, was durch die Drucksteigerung nach einer Adrenalininjektion bewiesen wird.

Die mit Kaninchen Nr. 7 und 8 gemachten Versuche zeigen, daß diese Wirkungen des T nicht eigenartig für das curarisierte Tier sind. Wir sehen tatsächlich, daß bei den nicht curarisierten Tieren auf jede Injektion des T ebenso unmittelbar eine vorübergehende Drucksenkung folgt, eine Senkung, auf die Steigerung des Druckes beim Kaninchen Nr. 7 folgt. Bei Nr. 8 steigt der Druck wieder höchstens bis zur selben Höhe wie vor der Injektion.

Wenn wir die Literatur durchsehen, um unsere Resultate mit jenen anderer Forscher zu vergleichen, die jene Wirkung des T auf den arteriellen Druck studiert haben, finden wir, daß die beobachteten Tatsachen ziemlich verschieden sind.

Stern (l. c.) behauptet, daß T beim Kaninchen eine leichte Blutdrucksteigerung hervorruft, die aber nicht so hoch wie beim Hunde ist. Er bestimmt die injizierte Dosis beim Kaninchen nicht genau.

Pick[2]) beobachtet nach der intravenösen Injektion von 3 bis 5 cg Tier bei einem Hunde von 14,5 kg eine beträchtliche Steigerung des Druckes, eine Steigerung, die sich bei Wiederholung der Injektion nicht beobachten ließ.

Wiechowski[3]) erhält, wenn er einem Hunde annähernd 1 mg T pro kg Körpergewicht injiziert, das erste Mal eine Steigerung des zentralen Blutdruckes. Wenn er die Injektion wiederholt, sinkt der Druck etwas.

Beim Kaninchen hingegen erhält er in den drei beobachteten Fällen nach der Injektion von T eine Drucksenkung, jedoch sehr viel weniger ausgesprochen wie in meinen Versuchen. Auf diese ebenfalls vorübergehende Senkung folgte eine leichte Steigerung in den beiden Fällen. Die injizierten Dosen des T bei arterieller Injektion betrugen für jeden Versuch 0,38 (?) mg, 20 mg und 9 mg bzw. pro kg.

Jonescu (l. c.) unterscheidet die Wirkungen je nach der injizierten

[1]) Morita, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 78, 218, 1915.
[2]) Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 399, 1899.
[3]) Wiechowski, ibid. 52, 389, 1905.

Dosis. Dosen von 0,5 bis 1,5 mg pro kg bei intravenöser Injektion wären die wirksamsten und erzeugten eine ausgesprochene Drucksteigerung beim Hund wie beim Kaninchen. Nach einer zweiten Injektion einer gleichen oder größeren Dosis ist die Drucksteigerung geringer oder fehlt sogar vollständig. Und er behauptet das, ohne einen Unterschied zwischen Hund und Kaninchen zu machen.

Wenn die injizierten Dosen 2 bis 4 mg pro kg betragen, gibt es eine geringere Drucksteigerung als mit den erwähnten Dosen, und es geht derselben eine vorübergehende Drucksenkung voran. Wenn die Dosen 5 mg pro kg übertrafen, fehlte die Drucksteigerung vollkommen, aber er sagt nicht, ob sich die Senkung zeigte.

Cloetta und Waser (l. c.), die 4 mg T kleinen Hunden injizierten, erhielten nach einer ersten Injektion eine mehr oder weniger große Drucksteigerung. Bei der Erneuerung der Injektion sieht man immer eine vorübergehende Drucksenkung, die manchmal beträchtlich ist, auf die aber keine Steigerung folgt.

Es ist schwer, aus allen diesen teilweise sich widersprechenden Tatsachen einen Schluß zu ziehen, aber es scheint, daß die Verschiedenheit derselben eher durch die verschiedenen benutzten Dosen bedingt ist, als durch einen Unterschied zwischen Kaninchen und Hund, wie es Wiechowski anzunehmen schien.

Meine Resultate stimmen andrerseits mit jenen überein, die von diesem Forscher beim Kaninchen gefunden wurden. Aber es geht aus meinen Versuchen hervor, daß die Wirkungen einer zweiten Injektion derjenigen einer ersten vollkommen gleich sind. Und mit den benutzten Dosen, die relativ groß waren — und vielleicht nur beim Kaninchen — gibt es nicht diese merkwürdige Immunität gegen die Blutdrucksteigerung, die eine erste Injektion erzeugen würde und die Cloetta und Waser so gründlich untersucht haben.

Außerdem zeugen meine Versuche, ebenso wie die von Wiechowski gegen die Ansicht von Jonescu, daß die Injektion von T in einer Dosis von 15 mg pro kg absolut keine Drucksteigerung hervorruft. Die Erklärung der beobachteten Tatsachen ist sehr schwierig, wenn man nicht annimmt, daß das T auch wirkt, indem es zentral die Pneumogastrici erregt, eine Wirkung, die u. a. auch von Jonescu bewiesen worden ist. Und es ist dieser mit jener vereinigten Erregung und der des Sympathicus zu danken, daß die beobachteten Phänomene auf den Druck erfolgen.

Zusammenfassung.

1. Um zu untersuchen, ob die Injektion des Chlorhydrats des Tetrahydro-β-Naphthylamin direkt eine Hyperglykämie beim Tier erzeugen kann, muß man dessen psychische und krampferzeugende Wirkung auf dasselbe ausschalten.

2. Die Injektion des T auf das Kaninchen verursacht in

genügenden Mengen, um wenigstens einen Zustand der Unruhe und der Erregung hervorzurufen, bei ihm eine vorübergehende Hyperglykämie, die nicht von einer Glykosurie begleitet ist. Wenn die injizierten Dosen klein sind, so daß das Tier nach der Injektion ruhig bleibt, zeigt sich die Hyperglykämie nicht.

3. Die Injektion von relativ großen Dosen T scheint beim narkotisierten Kaninchen eine Hyperglykämie zu erzeugen, die nicht nur eine Hyperglykämie infolge der Narkose zu sein scheint. Unter diesen Bedingungen muß, da die psychische und krampferzeugende Wirkung des T nicht existiert, die Hyperglykämie direkt von diesem Körper erzeugt worden sein.

4. Die Injektion einer großen Dosis T erweckt das mit Urethan und Äther tief eingeschläferte Kaninchen.

3. Die Injektion von T in verschiedenen Dosen (mehr als 2 mg pro kg Körpergewicht) erzeugt beim Kaninchen eine deutliche Senkung des arteriellen Druckes, sowohl beim curarisierten wie beim nicht curarisierten Tier. Die Senkung ist vorübergehend, und es folgt manchmal eine Drucksteigerung. Diese Wirkung des T wiederholt sich, wenn man die Injektion erneuert, und zwar mehrere Male.

Über eine allgemeine Beziehung der Aldehyde zur alkoholischen Gärung nebst Bemerkung über das Koferment der Hefe.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Die Carboxylase ist ein Enzym, das in der mit dem Sammelnamen Zymase belegten Fermentgruppe enthalten ist. In der Folge der Stufenreaktionen, die bei der alkoholischen Zuckerspaltung ablaufen, fällt allem Anschein nach allein der Carboxylase die wichtige Aufgabe zu, die Gärungskohlensäure zu liefern. Die Bildung der Kohlensäure aus der Brenztraubensäure ist ein in allen Einzelheiten klargelegter Vorgang[1]): da die Brenztraubensäure als ein intermediäres Umwandlungsprodukt des Zuckers zu gelten hat, ist das auf sie eingestellte Enzym, die Carboxylase, ein Ferment der Zuckergärung.

Die Wirksamkeit der Carboxylase ist aber ausgedehnter; denn sie ist ganz allgemein darauf gerichtet, neben Kohlendioxyd Aldehyde zu erzeugen. Die Substrate, aus denen die Aldehyde hervorgehen, sind die α-Ketosäuren, die ihrerseits nach den herrschenden Anschauungen das erste biochemische Umwandlungsprodukt der α-Aminosäuren im pflanzlichen und tierischen Organismus darstellen. Somit ist die Carboxylase auch eines der Fermente, die der Umsetzung der Eiweißbausteine dienen.

In der Tat begegnet man namentlich im pflanzlichen Stoff-

[1]) Neuberg und Mitarbeiter, diese Zeitschr. 1911 bis 1917.

wechsel überall Substanzen, an deren Entstehung wohl die Carboxylase erheblich mitwirkt. Ein Teil der gebildeten — namentlich der ohne entsprechende Sauerstoffaufnahme ausgeschiedenen — Kohlensäure einerseits, die in kleinen Mengen außerordentlich verbreiteten Aldehyde andererseits können als Folgen der Carboxylasetätigkeit aufgefaßt werden. Das Kohlendioxyd ist ein Endprodukt, während die Aldehyde in ihrer Hauptmenge schnell sekundären Veränderungen unterliegen; sie werden im pflanzlichen Organismus zumeist durch Reduktion beseitigt und so in die gleichfalls recht häufig auftretenden Alkohole verwandelt. Der Weg über die Aldehyde ist somit ein Hauptweg des Abbaues, der Umsetzungen sowie der Synthese. Die Carboxylase erfüllt demnach mehrere recht wichtige Aufgaben im Stoffwechsel. Die Carboxylase ist bisher das einzige Ferment, dessen Wirkungsbereich sich auf zwei so verschiedene Körperklassen wie Kohlenhydrate und Proteine erstreckt.

Außer diesen mehr allgemeinen Zusammenhängen haben sich nun jüngst auch noch besondere Beziehungen des Systems Carboxylase-α-Ketosäuren zu dem wichtigen Vorgange der intramolekularen Atmung ergeben, deren bestbekanntes Beispiel die alkoholische Gärung darstellt. Vor drei Jahren konnten Neuberg[1]) sowie Neuberg und Schwenk[2]) zeigen, daß bemerkenswerterweise Spuren aller physiologisch wichtigen α-Ketosäuren ein ausgesprochenes Aktivierungsvermögen bei der Zuckervergärung ausüben, nachdem vorher für den Einzelfall der Brenztraubensäure und ihres aldehydischen Zerfallproduktes die stimulierende Wirkung[3]) auf die Kohlendioxydproduktion verschiedener Pflanzen bzw. der Hefe angegeben war. Wie Neuberg und Neuberg und Schwenk (l. c.) bereits erkannt und ausführlich beschrieben haben, entfaltet diese Gruppe von natürlichen Aktivatoren ihre Wirksamkeit nicht allein bei der Vergärung des Traubenzuckers, sondern auch gegenüber der Vergärung von Mannose, Fructose, Maltose

[1]) Neuberg, diese Zeitschr. **71**, 75, 1915.

[2]) Neuberg und Schwenk, diese Zeitschr. **71**, 135, 1915.

[3]) Zaleski, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **31**, 354, 1913; Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **93**, 235, 1914/1915.

und Rohrzucker, kurz bei allen drei hauptsächlich gärenden Hexosen und bei deren gärfähigen Disacchariden.

Die Brenztraubensäure nimmt insofern eine Sonderstellung ein, als sie nicht nur aus einer Aminosäure, dem Alanin, hervorgehen kann, sondern nach den vorerwähnten Auffassungen auch als ein Zwischenprodukt beim alkoholischen Zuckerzerfall anzusehen ist, und es ist an sich nicht überraschend, daß eine Zwischenstufe der alkoholischen Gärung auf den ganzen Vorgang einen Einfluß nimmt. Viel bemerkenswerter ist es, daß auch alle übrigen α-Ketosäuren, am besten in Form ihrer Kaliumsalze, jene starke Wirkung auf den Ablauf der alkoholischen Zuckerspaltung äußern. Wie erwähnt, sind die α-Ketosäuren die ersten Umwandlungsprodukte der Eiweißbausteine: jeder natürlichen α-Aminosäure gehört eine α-Ketosäure zu. Jede von uns daraufhin untersuchte α-Ketosäure zeigte uns die dargelegte gewaltige stimulierende Wirkung auf den Gärungsverlauf bzw. auf die intramolekulare Atmung. Da nun die α-ketosauren Salze schon in sehr geringen Mengen den Gärungsvorgang stimulieren, so handelt es sich hier um ein Ineinandergreifen von Eiweiß- und Zuckerumsatz, um eine Wechselbeziehung, aus der sich auch die ersten faßbaren Zusammenhänge mit der eigentümlichen Wirkung des sogenannten Koferments der alkoholischen Gärung ergeben haben.

Denn wie Neuberg und Schwenk (l. c.) zeigen konnten, ist ein Gemisch, das möglichst alle natürlichen α-Ketosäuren enthält, imstande, das Koferment weitgehend zu ersetzen. Jedenfalls tritt bei diesen Erscheinungen ein neuartiger eigentümlicher Einfluß des Aminosäurenstoffwechsels auf den Vorgang der alkoholischen Gärung zutage. Wesentlich für die Annahme eines Zusammenhanges von Koferment mit den α-Ketosäuren ist das Verhalten des sogenannten Koferments. Es stellt, wie wir heute wissen, für die Wirkung der Zymase einen unerläßlichen Ergänzungsstoff dar, der in der normalen lebenden Hefe stets vorhanden ist, sich jedoch in Zymasepräparaten — in Hefesäften oder in abgetöteten Hefezellen (Zymin, Trockenhefen und dergl.) — erschöpft. Dieses Verschwinden würde auf das beste mit einem α-Ketosäurencharakter des Koferments übereinstimmen. Denn die lebende Hefe zeigt einen Proteinumsatz, bei dem

dauernd α-Ketosäuren auftreten müssen. Unter dem Einflusse der Carboxylase zerfallen die α-Ketosäuren in Kohlendioxyd und Aldehyde und auch letztere unterliegen weiteren Umwandlungen, insbesondere durch Reduktion zu den zugehörigen Alkoholen. Anders bei den von lebenden Zellen abgetrennten Zymaseprodukten. Weder Hefepreß- noch Macerationssaft noch Acetondauerhefe haben einen Eiweißstoffwechsel; sie bilden keine neuen Quantitäten von α-Ketosäuren. Wenn also solche Präparate unter Bedingungen gelangen, wo die in ihnen enthaltene Carboxylase in Wirksamkeit tritt, erfolgt ein Verbrauch der in ihnen vorhandenen vorgebildeten Ketosäuremengen, und sie werden mangels einer Neuproduktion an α-Ketosäuren verarmen, so daß die stimulierende Kraft erlöschen muß. Schon in der ersten Mitteilung haben Neuberg und Schwenk[1]) darauf hingewiesen, daß bisher eine einzelne Ketosäure nicht mit dem Koferment identifiziert werden darf, daß z. B. auch die Gegenwart von Kaliumphosphat erforderlich ist, und daß wahrscheinlich nur von dem Gemisch aller oder vieler von den Eiweißbausteinen sich ableitenden α-Ketosäuren die volle Kofermentwirkung zu erwarten ist. Ein Gemenge von 10 ketosauren Kaliumsalzen mit Kaliumphosphat zeigte bereits ein Verhalten, das mit den bekannten Eigenschaften des sogenannten Koferments in den wesentlichen Punkten übereinstimmte. Auf diesen Gegenstand werden wir später (s. S. 202) noch einmal eingehen.

Nun ist aber in Betracht zu ziehen, daß α-Ketosäuren oder ähnlich wirkende Aktivatoren, genau wie aus den Aminosäuren und aus den Zuckern selbst, auch noch aus anderen Verbindungen im Stoffwechsel entstehen können. Das trifft insbesondere für die biologischen Spaltungsprodukte der α-Ketosäuren, für die Aldehyde, zu. Beispielsweise werden bei photokatalytischen Prozessen[2]) nicht nur aus den Eiweißbausteinen und Kohlenhydraten diese Produkte gebildet, sie gehen mit größter Leichtigkeit auch bei Belichtung aus den Pflanzensäuren[3]) hervor, z. B. aus Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure und dergl. Die nämlichen Produkte, die Aldehyde, treten bei

---

[1]) Neuberg und Schwenk, l. c.

[2]) Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **29**, 279, 1910; **61**, 315, 1914.

[3]) Neuberg, diese Zeitschr. **67**, 59 und 63, 1914.

der Einwirkung von Sauerstoff in Form des aktivierten Wasserstoffsuperoxyds[1]) sowie beim Ausgleich elektrischer Spannungsdifferenzen[2]) auf, ganz zu schweigen von den zahlreichen chemischen Reaktionen, mit denen eine Bildung mehr oder minder großer Mengen von Aldehyden einhergeht. Nicht nur im intermediären Stoffwechsel begegnet man den Aldehyden, sondern wir finden sie in den Geweben sowie in den fertigen Se- und Exkreten der Pflanzen ungemein häufig. Es genügt der Hinweis auf das ständige Vorkommen mehr oder weniger großer Mengen in fast allen ätherischen Ölen und auf ihre große Verbreitung[3]) in den grünen Blättern.

Bei diesen Zusammenhängen entbehrt es nun nicht des Interesses, das nach den im folgenden mitgeteilten eingehenden Versuchen die Aldehyde zu den wirksamsten Aktivatoren der alkoholischen Gärung und auch weiterhin der intramolekularen Atmung zu zählen sind.

Bei 38 Aldehyden aus den allerverschiedensten Reihen, die in die aromatische wie aliphatische Gruppe gehören oder Glieder der hydroaromatischen wie der komplizierteren Ringsysteme bilden, die leicht sieden oder nicht flüchtig sind, fanden wir den stimulierenden Effekt nachweisbar mit einer Deutlichkeit, wie man sie selten bei einem biochemischen Objekt zu erzielen in der Lage ist.

Wir untersuchten, beginnend mit dem einfachsten möglichen Aldehyd, dem Formaldehyd, alle Glieder der aliphatischen Reihe bis zum Zehner-Aldehyd[4]) mit positivem Ergebnis. Der nicht flüchtige β-Oxybuttersäurealdehyd, das Aldol, sowie das Acetpropionaldol wirken gleichermaßen. Der Benzaldehyd und seine Homologen, die Oxybenzaldehyde sowie ihre Phenoläther vom Typus des Anisaldehyds und Piperonals, ferner der fettaromatische Phenylacetaldehyd zeigen in ausgesprochener Weise denselben

[1]) Neuberg u. Blumenthal, Beitr. z. chem. Physiol. u. Patholog. 2, 238, 1902; Neuberg, diese Zeitschr. 67, 71, 1914; Neuberg und Rubin, diese Zeitschr. 67, 77, 1914; Neuberg und Rewald, diese Zeitschr. 67, 127, 1914.

[2]) Neuberg, diese Zeitschr. 17, 270, 1909.

[3]) Curtius und Franzen, Ch. C. 12, II, 722 und 14, I, 1840.

[4]) Auch verschiedene Isomere sind berücksichtigt worden; für den Einzelfall des Acetaldehyds ist, wie bereits erwähnt (Oppenheimer, l. c.), schon eine stimulierende Wirkung bekannt.

Einfluß. Die Vertreter der aliphatischen Terpene mit Aldehydcharakter, die ungesättigten und mehrfach ungesättigten Aldehyde Citronellal und Citral, der ungesättigte Zimtaldehyd und das ringförmige Zyklocitral sowie das heterozyklische Furfurol verhalten sich ebenso. Auch Dialdehyde (Glyoxal, Phtalaldehyde) und Ketonaldehyde (Methylglyoxal, Phenylglyoxal) sind stark wirksam; ihnen an schließen sich die aliphatischen wie aromatischen Aldehydsäuren vom Typus der Aldehydbernsteinsäure und Opiansäure.

Der Effekt beschränkt sich auch nicht nur auf die gewöhnlichen Aldehyde, er kommt auch den Thioaldehyden zu, die wohl in der Natur auf Grund der Untersuchungen von Neuberg und Nord[1]) bei der Entstehung der Merkaptane und Sulfide ebenso Zwischenprodukte sein können wie die Sauerstoffaldehyde für die zugehörigen Alkohole.

Überhaupt findet sich die ausgesprochene Aktivierungskraft nicht nur bei natürlich vorkommenden Aldehyden, sondern auch bei künstlich gewonnenen, z. B. dem Chloralhydrat und den Phtalaldehyden, ganz im Einklange mit der Erfahrung, daß auch körperfremde α-Ketosäuren sowohl der zuckerfreien Gärung durch die Carboxylase unterliegen[2]) als auch auf den Ablauf der alkoholischen Gärung stimulierend wirken[3]). Eine einzige Ausnahme haben wir bisher gegenüber so vielen positiven und unzweifelhaften Ergebnissen beobachtet, und zwar beim Vanillin (*m*-Methoxy-*p*-oxybenzaldehyd), das keine aktivierende Wirkung erkennen ließ; aber allzuviel Bedeutung ist dem einzelnen Versager nicht beizumessen, da es sich in anderen Fällen gezeigt hat, daß sich bei Variation der Konzentrationsverhältnisse doch ein positiver Effekt einstellt (siehe S. 164, 165, 166 und 173 beim Thialdin, dem Phenylglyoxal und der Opiansäure).

Die stimulierende Fähigkeit ist allen den erwähnten Al-

---

[1]) C. Neuberg und F. F. Nord, Ber. 47, 2264, 1914 und diese Zeitschr. 67, 46, 1914.

[2]) Siehe bei Neuberg und Kerb, diese Zeitschr. 47, 413, 1912. — Elisab. Róna, diese Zeitschr. 67, 137, 1914. — Neuberg u. Schwenk, diese Zeitschr. 71, 104, 1915.

[3]) Neuberg, diese Zeitschr. 71, 84, 1915.

dehyden für sich eigen, er kommt — vielleicht sogar in verstärktem Maße — auch den Gemischen der verschiedenen Aldehyde zu. Das Aktivierungsvermögen der Aldehyde tritt bei der Vergärung von *d*-Glucose, *d*-Mannose und *d*-Fructose zutage, d. h. bei allen drei typisch gärenden Sechskohlenstoffzuckern, für die wir jüngst den Namen „Zymohexosen" vorgeschlagen haben[1]). Die Wirkung der Aldehyde erstreckt sich auf ein sehr großes Konzentrationsbereich. Ein und derselbe Aldehyd übt den gleichen Einfluß in 1000fach verschiedener Verdünnung (n- bis $^{n}/_{1000}$-Lösung, siehe S. 176 bis 183) aus; die wirksamen Gewichtsmengen können sich sogar wie 5000 : 1 verhalten; so kann man die Aktivierung beispielsweise bei einem Gehalt der Zuckerlösung an 1,17 % Citral herab bis zu dem außerordentlich geringen Gehalt von 0,00023 % an Formaldehyd feststellen. Wir glauben, daß gerade dieses Verhalten besondere Aufmerksamkeit verdient.

Mit großer Schärfe offenbart sich der gewaltige stimulierende Einfluß der Aldehyde auf die Vergärung des Traubenzuckers. Bei der gewählten Versuchsanordnung (siehe unten) tritt die Wirkung häufig noch deutlicher bei der Gärung von Mannose zutage, entsprechend der langsameren Angärung dieses Kohlenhydrats. Der Einfluß auf die Vergärung des Fruchtzuckers sowie Rohrzuckers ist nicht ganz so ausgesprochen, aber durchaus erkennbar. Dieses Verhalten steht im Einklange mit der Erfahrung[2]), daß auch die ketosauren Salze im allgemeinen die Vergärung der Fructose weniger als die der anderen Zymohexosen fördern, und daß Frucht- und Rohrzucker[3]) an sich überhaupt besonders leicht und geschwind gären; möglicherweise hängt die Erscheinung auch mit dem von Harden mitgeteilten Umstande zusammen, daß die Fructose selbst die Gärung des Traubenzuckers zu stimulieren vermag. Alles das bedeutet vielleicht, daß aus dieser Ketose besonders schnell im normalen Gärungsverlaufe ein natürlicher Aktivator gebildet wird.

Die geschilderte Wirkung der Aldehyde gibt sich am besten

---

[1]) Neuberg, Färber, Lewite und Schwenk, diese Zeitschr. 83, 247, 1917.

[2]) Neuberg, diese Zeitschr. 71, 82ff., 1915.

[3]) Macfaiden, Morris und Rowland, Ber. 33, 2764, 1900.

zu erkennen bei der Vergärung des Zuckers mit Hefemacerationssaft, und zwar unter üblichen Bedingungen, z. B. bei Vergärung einer 5 %igen Zuckerlösung mit der 5 fachen Menge der genannten Fermentlösung. Zu diesem Gemisch setzten wir alsdann die Aldehydlösungen in wechselnden Konzentrationen. Auf die besondere Reinheit der Aldehyde wurde deshalb ein großer Wert gelegt, weil eben das Aktivierungsvermögen sich bei allen Gliedern dieser Gruppe als so verbreitet erwies, daß zu seiner Feststellung homologe oder isomere Körper sicher abwesend sein müssen. Der Stimulationseffekt der Aldehyde ist in prinzipiell gleicher Weise auch bei der Vergärung mit lebenden Hefezellen zu erkennen; die stets sich erneuernde Nachlieferung von natürlichen Aktivatoren erschwert den Nachweis etwas.

Die aktivierende Wirkung ist, wenn man die Gärversuche in Eudiometern vornimmt, auf das einfachste und überzeugendste schon durch den Augenschein zu erkennen, da die erzielte Gärungsbeschleunigung, gemessen an der in den Zeitabschnitten entwickelten Kohlensäuremenge, mehr als den 100fachen Betrag des Normalwertes ausmachen kann. Die Wirkung der aldehydischen Aktivatoren kann in der Regel im Verlauf eines Zeitraums von $^1/_2$ bis $2^1/_2$ Stunden demonstriert werden. Sie ist für gewöhnlich am deutlichsten bei Zimmertemperatur (15 bis 20°), ist aber auch bei niederen und höheren Wärmegraden nachzuweisen, wo natürlich die Vorgänge eine Verzögerung bzw. Steigerung erfahren.

Naturgemäß ist die Stimulierung in der ersten Zeit der Gärung am stärksten, gegen Ende gleichen sich die Unterschiede aus; denn mehr als vergären kann das Gemisch ja nicht. Das Nachlassen der Aktivatorwirkung nach einer Periode kräftiger Tätigkeit kann auch mit der einsetzenden Reduktion der Aldehyde zusammenhängen; gerade für zahlreiche Fälle steht die Hydrierung der Aldehyde zu den entsprechenden Alkoholen ausdrücklich fest, so für Isovaleraldehyd[1]), Acetaldehyd[2]), Form-

---

[1]) C. Neuberg u. H. Steenbock, diese Zeitschr. 52, 494, 1913 und 59, 188, 1914.

[2]) C. Neuberg u. Joh. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie 1, 114, 1912.

aldehyd[1]), Furfurol[2]), Benzaldehyd und Phenylacetaldehyd[3]), Zimtaldehyd[4]), Citronellal[5]), Citral[6]), Thioacetaldehyd[7]) usw.

Im allgemeinen eignen sich die Säfte aus beliebigen Unterhefen für die Erkennung der Aldehydwirkung. Solche, an denen die Beeinflussung nicht nachweisbar wäre, haben wir nicht beobachtet; wohl aber kommen gelegentlich Säfte vor, die für sich so schnell und kräftig den Zucker umsetzen, daß eine Verstärkung der Gärung durch die aldehydischen Zusätze nicht mehr möglich ist. Dann kann man sich in einfacher Weise durch eine Verdünnung der Säfte mit 10 bis 100% Wasser helfen und so wieder eine Wirkungsmöglichkeit der Aldehyde erzielen. Dieses Vorgehen kommt auf dasselbe heraus, als ob man den Saft aus einem weniger kräftigen Ausgangsmaterial oder durch Extraktion der Trockenhefe mit einer größeren Wassermenge bereitet hätte. Offenbar sind solche starken Säfte maximal mit den natürlichen Aktivatoren gesättigt, so daß eine künstliche Zufügung keine Wirkung mehr hervorbringen kann. Auch das erwähnte Verhalten des Fruchtzuckers, dessen Gärung durch die Aldehyde nicht so stark stimuliert wird, könnte z. B. seinen Grund darin haben, daß zur Vergärung dieses anders konstituierten Zuckers andere oder überhaupt keine Aktivatoren erforderlich sind, oder aber, daß eine geringere Menge derselben bereits die gleiche Wirkung ausübt, oder daß bei seinem natürlichen Zerfall selber solche mit besonderer Schnelligkeit gebildet werden.

Die Hefensäfte sind in der Regel 48 Stunden lang brauchbar. Bei fortgesetzter Aufbewahrung können Veränderungen eintreten, die eine Wirkungslosigkeit zugesetzter Aldehyde bedingen. Einmal kann bekanntermaßen die Gärung überhaupt erlöschen, dann kann aber auch eine Verstärkung vorkommen,

---

[1]) C. Neuberg u. E. Welde, diese Zeitschr. 67, 104, 1914.

[2]) C. J. Lintner u. H. J. v. Liebig, Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, 449, 1911.

[3]) C. Neuberg u. E. Welde, diese Zeitschr. 62, 477, 1914.

[4]) Elisab. Róna, diese Zeitschr. 67, 137, 1914.

[5]) P. Mayer u. C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 174, 1915.

[6]) noch unveröffentlicht.

[7]) C. Neuberg u. F. F. Nord, diese Zeitschr. 67, 46, 1914.

die wohl auf autolytische Vorgänge, insbesondere auf die Bildung von Aldehyden selbst[1]), zurückzuführen ist.

Die allgemeine stimulierende Wirkung der Aldehyde erstreckt sich nun nicht nur auf den Vorgang der alkoholischen Gärung, sondern auch auf den damit nahe verwandten Prozeß der allgemeinen intramolekularen Pflanzenatmung, die ihrerseits als eine besondere Form, vielleicht als eine Teilerscheinung der allgemeinen Pflanzenatmung gelten kann. Nach eigenen Erfahrungen ist die Carboxylase in zahlreichen pflanzlichen Objekten anzutreffen, die eine intramolekulare Atmung gut erkennen lassen, auch liegen einige Angaben anderer Autoren bereits darüber vor, daß unsere Carboxylase in höheren Pflanzen vorkommt, wie in Erbsen, Mais und Weizen[2]), sowie in der Zuckerrübe und Kartoffel[3]). Wir schließen daraus, daß auch diese Objekte Beziehungen zum Aldehydumsatz besitzen. Das hat sich schon bei unseren ersten Versuchen an Puffbohnen, die zu gelegener Zeit noch Ergänzungen bedürfen, herausgestellt; auch hier wird die Kohlensäureproduktion auf das deutlichste durch die Aldehyde gefördert.

Man kann sich schwerlich vorstellen, daß diese gewaltige Beeinflußbarkeit des Gärungs- und Atmungsprozesses durch die Aldehyde eine zufällige Erscheinung darstellen und nicht auch unter natürlichen Verhältnissen erfolgen sollte. Man denke nur an das allgemeine Vorkommen der Aldehyde[4]) in den verschiedensten Vegetabilien und an so mannigfachen Stellen des Pflanzenkörpers. Insbesondere verdient wohl der Umstand Beachtung, daß der niedrigste Vertreter der Aldehyde, der Form-

---

[1]) C. Neuberg u. J. Kerb, diese Zeitschr. **43**, 494, 1912 und Ber. **47**, 2730, 1914; C. Neuberg u. E. Schwenk, diese Zeitschr. **71**, 126, 1915.

[2]) W. Zaleski u. E. Marx, diese Zeitschr. **47**, 184, 1912 und **48**, 175, 1913; Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **31**, 349, 1913.

[3]) J. Bodnár, diese Zeitschr. **73**, 193, 1916.

[4]) In der botanischen Literatur scheint nichts über Beziehungen zwischen Atmung und Aldehyden bzw. ätherischen Ölen niedergelegt zu sein, wie denn überhaupt die Rolle der letzteren noch wenig geklärt ist. Eine kurze Angabe lediglich über die einsetzende Entwicklung des Aromas, an dessen Zustandekommen häufig auch Aldehyde beteiligt sind, bei intramolekularer Atmung findet sich bei A. Nathansohn, Stoffwechsel der Pflanzen, 1910, S. 325.

aldehyd, hier nicht aus der Reihe herausfällt, sondern daß er in seiner Wirkung sich vollkommen seinen Homologen anschließt. Da nach den neuesten Untersuchungen Willstätters die alte Bayersche Hypothese von der Rolle des Formaldehyds als erstes Produkt der Assimilation immer mehr an Wahrscheinlichkeit gewinnt, ist es bemerkenswert, daß die von der Pflanze im Assimilationsprozesse gebildete Durchgangssubstanz zugleich auch einen der kräftigsten Aktivatoren für die weitere Verarbeitung des über die Formaldehydstufe entstandenen Zuckers darstellt. Bisher[1]) haben Formaldehyd und Acetaldehyd schlechthin als Zymasegifte gegolten.

Übrigens können auch die Aldehydderivate, wie z. B. die Ammoniak- und Bisulfitadditionsprodukte, als Aktivatoren wirksam sein, insbesondere bei den höheren Aldehyden, wobei aber vielleicht die Dissoziation dieser Anlagerungsprodukte eine Rolle spielt, während das Hexamethylentetramin mit seiner abweichenden Konstitution und die wenig dissoziierten formaldehydschwefligsauren Salze keinen erheblichen Einfluß ausüben. Der Thioacetaldehyd ist in Form seines Ammoniakderivates, des Thialdins, wirksam.

Der fördernde Einfluß der Aldehyde ist streng spezifisch für diese Körperklasse: er geht vollständig den Ketonen ab. Aceton, Methyläthylketon, Methylpropylketon, Dipropylketon und Methylhexylketon hemmen eher etwas. Aus dem Vergleich mit den höchst wirksamen Isomeren, dem Propylaldehyd, den Butylaldehyden, den Valeraldehyden, dem Önanthol und Octylaldehyd, folgt angesichts der Ähnlichkeit der physikalischen Konstanten, daß nicht etwa Folgen einer geänderten Oberflächenspannung vorliegen, an die man hätte denken können, oder ähnliche mechanische Einflüsse im Spiele sind. Alles spricht dafür, daß es sich um eine typische Rolle der Aldehydgruppe handelt.

Zusätze, die den Aldehydrest in Mitleidenschaft ziehen, heben dementsprechend die Stimulation auf. Blausäure, Hydroxylamin und Hydrazinbasen in solchen Konzentrationen, daß sie die normale Gärung nicht lähmen und von der angewen-

---

[1]) A. Wróblewski, Ch. C. **1901**, II, 701; Th. Bokorny, Arch. f. d. ges. Physiol. **164**, 271, 1916.

deten Aldehydmenge gebunden werden können, schwächen oder vereiteln den Effekt der aldehydischen Beigaben; sie wirken unter diesen Bedingungen lediglich als Aktivatorgifte, nicht als Fermentgifte. Ammoniak oder Sulfite, die sich ebenfalls an die Aldehydgruppe anlagern, üben einen solchen hemmenden Einfluß nicht oder nur in geringerem Grade aus; denn, wie erwähnt (s. S. 166 u. 167 und vgl. auch S. 170), macht sich bei diesen Additionsverbindungen der Zerfall durch Dissoziation geltend, der genügend freien Aldehyd zur Verfügung stellen dürfte. Vielleicht ist in einer entsprechenden Reaktion der erstgenannten Reagenzien mit Carbonylgruppen der Enzyme oder ihrer natürlichen Ergänzungsstoffe eine Erklärung ihrer bekannten besonderen Giftigkeit zu suchen.

Eine anders geartete Schwächung der aldehydischen Aktivatorwirkung kann von zugesetzten lipoiden Desinfektionsmitteln ausgehen. Eine Zugabe von Toluol verringert, namentlich bei den höher molekularen Aldehyden, den Effekt (vgl. S. 199). Offenbar handelt es sich hier einfach um eine „Ausschüttelung" der Aldehyde durch das organische Lösungsmittel, wobei entsprechend den Verteilungsverhältnissen eine gewisse Menge wirksamen Aldehyds auch in der wäßrigen Schicht verbleibt und zur Betätigung gelangt. Man wird sich fragen dürfen und einschlägige Versuche anstellen können, ob die vielfach beobachteten Einflüsse[1]) von Anästheticis und Narkoticis auf die Atmungsvorgänge nicht mit einer solchen Entziehung von Carbonylverbindungen einerseits, ihrer Anreicherung in bestimmten Schichten andererseits im Zusammenhange stehen.

Es liegen einige Angaben über die Einwirkung von Aldehyden auf tierische Atmungsvorgänge vor; bei der Gewebeatmung fanden Batelli und Stern[2]), und beim Gaswechsel der roten Gänseblutkörperchen sah Warburg[3]) nur Hemmungen durch Aldehyde. Ob jedoch nicht unter anderen Verhältnissen auch ein fördernder Einfluß zutage treten kann, würden weitere Forschungen zu entscheiden haben. Bei fermentativen Prozessen scheinen bisher nur Schädigungen auf Zusatz von Aldehyden beobachtet zu sein[4]).

---

[1]) L. Jost, Pflanzenphysiologie, **1913**, 254 u. 427.

[2]) F. Batelli u. L. Stern, diese Zeitschr. **21**, 499, 1909 und **52**, 253, 1913.

[3]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **71**, 479, 1911.

[4]) Vgl. hierzu auch neuerdings M. Jacoby, diese Zeitschr. **85**, 358, 1917.

In ihrem Effekt kommt die aldehydische Aktivatorenwirkung auf dasselbe heraus wie eine Temperaturerhöhung, d. h. die Aldehyde beschleunigen den Eintritt der Zuckerspaltung genau ebenso, wie eine Erwärmung. Zieht man in Betracht, daß nach der van t' Hoffschen Regel eine Temperatursteigerung um 10⁰ gewöhnlich eine Verdoppelung der Reaktionsgeschwindigkeit mit sich bringt, so kann man daran auch die Stärke der Aldehydstimulierungen ermessen, die bei gleichbleibender Temperatur die Reaktion um mehr als das 100fache beschleunigen können.

Da diese Stimulation sowohl bei niederen Wärmegraden als bei Zimmertemperatur eintritt, so darf man darin vielleicht eines der Hilfsmittel der Pflanze erblicken, die notwendige Atmungsintensität und damit den erforderlichen Energiegewinn von der Umgebungstemperatur unabhängig zu machen. Man darf in der Aktivatorwirkung der Aldehyde vielleicht auch eines der Mittel suchen, deren sich die Pflanze bei der Regulation des bestehenden, aber nicht geklärten Abhängigkeitsverhältnisses[1]) zwischen Assimilationsleistung und Atmungsstoffwechsel bedient. Jede gesteigerte Bildung von Aldehyden dürfte eine Verstärkung, jeder erhöhte Verbrauch von Aldehyden eine Verminderung der Atmung bedingen können; kurz, der Aldehydstoffwechsel vermag in den Ablauf der Atmungsvorgänge einzugreifen. Bedenkt man ferner, daß auch in den natürlichen Gärsubstraten, in den Maischen verschiedenster Herkunft, nicht nur die von Natur vorhandenen Aldehydmengen gelangen, sondern daß auch durch die technischen Vorbereitungen, wie Dämpfen, Dörren, Rösten u. dgl. noch neue Aldehydquantitäten erzeugt werden, z. B. das Furfurol, das so leicht durch Zersetzung aller Kohlenhydrate entsteht, so darf man eine nützliche Wirkung hiervon für das Gärgut erwarten. Es wird die Aufgabe weiterer Forschungen sein, neben der Bearbeitung vieler sich hieran knüpfender Fragen festzustellen, ob auch für die Atmung der tierischen Gewebe ein solcher Einfluß der Aldehyde nachweisbar ist, und ferner, inwieweit künstlich gewonnene, „körperfremde“ Vertreter dieser Körperklasse ihn allgemein besitzen.

---

[1]) A. Nathansohn, l. c. S. 355.

Folgende Aldehyde dienten zu den Versuchen über den Stimulationseffekt:

Aliphatische Aldehyde: Formaldehyd, Propionaldehyd, n-Butylaldehyd, Isobutylaldehyd, n-Valeraldehyd, Isovaleraldehyd, d-, l-Methyläthylacetaldehyd, d-Valeraldehyd, n-Capronaldehyd, Önanthol, Octylaldehyd, Nonylaldehyd, Decylaldehyd.

Halogenaldehyd: Chloralhydrat.

Oxyaldehyde: Aldol (β-Oxybuttersäurealdehyd), Acetpropionaldol.

Ungesättigte Aldehyde: Citronellal, Citral.

Aromatische Aldehyde: Benzaldehyd, Cuminol (p-Isopropyl-benzaldehyd), Phenylacetaldehyd.

Aromatische Oxyaldehyde und deren Äther: Salicylaldehyd, p-Oxybenzaldehyd, Anisaldehyd, Piperonal, [Vanillin].

Ungesättigte aromatische Aldehyde: Zimtaldehyd.

Zyklische Aldehyde: Furfurol, Zyklocitral.

Dialdehyde: Glyoxal, Isophtalaldehyd, Terephtalaldehyd.

Ketonaldehyde: Methylglyoxal, Phenylglyoxal.

Aldehydsäuren: Aldehydbernsteinsäure, o-Phtaldehydsäure, Isophtalaldehydsäure und Opiansäure (5,6-Dimethoxyphtalaldehydsäure).

Zumeist wurden die Aldehyde, auch die in Wasser löslichen, der Gleichmäßigkeit wegen in reinstem absoluten Alkohol gelöst und mit Wasser zu dem in den einzelnen Reihen angegebenen Gehalte verdünnt. Dabei entstanden klare oder in einzelnen Fällen schwach getrübte Lösungen; beim nachfolgenden Zusammenbringen mit dem Safte und der Zuckerlösung wurden dann fast stets ganz klare Gemische erhalten. Obgleich der Aktivierungseffekt auch mit rein wäßrigen Lösungen bzw. Suspensionen von Aldehyden deutlich auftritt, schien uns die Benutzung homogener Flüssigkeiten empfehlenswerter, und zwar wurden wegen der leichten Veränderlichkeit mancher Aldehyde nur höchstens 48 Stunden alte Lösungen verwendet.

Über die Wirkungsweise dieser Aldehyde unter verschiedenen Bedingungen geben die nachstehenden Auszüge aus den Versuchsprotokollen Auskunft.

A. Versuche mit frischem Macerationssaft aus Trockenhefe[1]) vom März 1915 und Traubenzucker.

Temperatur 18°.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
   1,0 „ Wasser, das 12,5% Alkohol enthält.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0	0,4	7,2	9,0	17,5

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Propionaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,5	3,2	7,7	9,2	19,1

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Isobutylaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	2,0	7,5	9,5	10,5	19,0

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	4,5	7,0	9,4	10,7	18,6

5. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Normalcapronaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	3,2	4,7	7,4	9,2	17,8

6. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	18h
	5,5	8,0	9,7	10,7	16,1

---

[1]) Hier wie in allen übrigen Fällen aus untergäriger Hefe in bekannter Weise bereitet.

Bei diesen Versuchen setzte die Gärung in Nr. 6 nahezu sofort ein, dann begann sie der Reihe nach in Nr. 4, 5, 3, 2 und zuletzt in der Kontrolle 1, die nach 30 Minuten sich noch nicht gerührt hatte. Hier zeigten äquimolekulare Aldehydmengen ein Aktivierungsvermögen, das angenähert mit der Größe des Molekulargewichtes bis zur C_7-Reihe zunahm. Die starke Wirkung des Önanthols ist besonders bemerkenswert.

B. Versuche mit demselben Saft (aus Trockenhefe vom März 1915), der jedoch 24 Stunden alt[1]) war, und Traubenzucker.

Temperatur dieses Mal 16°.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Normalbutylaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	1,0	4,2	6,0	7,3	12,7

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Normalvaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,7	2,5	5,8	7,8	17,3

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Methyl-normal-hexylketon (zum Vergleich).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0	0	2,2	5,4	11,3

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Octylaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,5	2,7	6,8	8,0	18,3

---

[1]) Die aufbewahrten Säfte wurden stets im Eisschrank (Temperatur etwa + 4°) gelagert.

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 %ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Nonylaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,5	2,1	5,9	7,4	18,8

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 %ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Decylaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0	0	8,0	9,6	16,8

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 %ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	4,2	7,6	9,3	10,1	15,9

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 %ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Phenylacetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	1,0	6,8	9,5	10,6	18,1

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 %ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	6,7	9,3	10,9	11,7	19,3

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 %ige Glucoselösung,
1,0 " 20 %iger wäßriger Alkohol (als Kontrolle).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0	0	3,0	7,5	17,0

In diesen Versuchen trat eine besondere Überlegenheit des Zimtaldehyds zutage, dessen kräftige Wirkung die der übrigen Aldehyde noch bedeutend übertraf.

Der zum Vergleich angestellte Versuch mit dem Methyl-n-hexylketon (Nr. 3) lehrte, daß dieses Keton nicht nur schwächer als der isomere Octylaldehyd (Nr. 4) und überhaupt als alle

anderen Aldehyde wirkte, sondern auch hinter dem Kontrollversuche mit Wasser (Nr. 10) zurückblieb; das Keton erwies sich eher als hemmend.

C. Versuche mit frischem Saft aus Trockenhefe vom März 1916 und Traubenzucker.

Temperatur 17°.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	1,3	8,5	10,3	11,2	20,3

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Citronellal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	1,6	8,0	9,6	10,7	18,0

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	4,7	7,5	8,8	9,9	17,6

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,7	7,1	9,2	10,3	15,8

5. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Salicylaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,7	1,3	6,2	9,0	16,2

6. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
   1,0 „ m/100-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	5,8	8,9	10,0	11,2	18,4

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	3,8	8,0	9,2	10,2	18,0

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-p-Oxybenzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0,7	2,8	7,0	9,3	15,2

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " H_2O (mit 15 % igem Alkohol).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h
	0	0,3	3,3	6,3	16,4

Bei der Versuchsreihe C war die besonders große Wirksamkeit des Furfurols und Anisaldehyds bemerkenswert, die beispielsweise erheblich kräftiger als der Acetaldehyd stimulierten. Der einfachste Vertreter der Aldehyde, der Formaldehyd, wirkte in der ersten halben Stunde etwas schwächer, nach einer weiteren halben Stunde jedoch angenähert ebenso stark wie sein nächstes Homologes. Nach einer Stunde übertraf die in Formaldehydgegenwart entwickelte Menge Gärungskohlensäure um das 24 fache das Quantum Kohlendioxyd, das im Kontrollversuche ohne aldehydischen Aktivator gebildet worden war.

D. Versuche mit 2 Tage altem Saft aus Hefe vom März 1916 und Traubenzucker.

Temperatur 15,5°.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Aldol (β-Oxybuttersäurealdehyd).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18h	40h
	0,8	2,5	5,5	6,2	15,4	16,8

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Acetpropionaldol[1]).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0,7	3,0	6,1	7,1	16,0	17,4

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Thialdin.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0	0	2,8	4,4	15,2	17,2

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Chloralhydrat.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0	0	2,8	5,0	16,1	16,9

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Vanillin.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0	0	0	0,7	13,7	21,4

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Glyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0,5	3,4	6,9	8,2	17,7	20,8

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Phenylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0	0	0,7	2,9	15,9	21,3

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Aldehydbernsteinsäure.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	18ʰ	40ʰ
	0	0,3	2,4	5,1	16,5	19,3

---

[1]) Dargestellt nach F. X. Schmalzhofer, Monatsh. **21**, 671, 1900.

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1;0 " m/100-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	18h	40h
	1,0	5,9	7,8	8,9	16,3	19,2

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	18h	40h
	0	0	0,3	4,1	15,0	16,4

Bis auf das Vanillin haben alle Aldehyde einen Effekt geäußert. Unter etwas anderen Bedingungen, namentlich auch bei der Vergärung von Mannose, Fruchtzucker und Saccharose, haben sich Thialdin, Chloralhydrat und Phenylglyoxal als wirksamer herausgestellt (vgl. S. 167 u. 168). Das Alter des Saftes war hier wohl nicht ohne Einfluß. Versuchsreihe D war doppelt, und zwar sowohl mit rein wäßrigen Aldehydlösungen als mit solchen in 15 % igen Alkohol, angestellt gewesen; die Ergebnisse waren gleich.

E. Versuche mit frischem Saft aus Hefe vom September 1916 und Traubenzucker.

Temperatur 17°.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " Wasser (mit 10 % Alkohol).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	7,1	9,2

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " 4 % Thialdin (= ca. m/4-Lösung).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90	120′
	3,5	9,1	11,1	12,1

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " 1,7 % Chloralhydrat (= ca. m/10-Lösung).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,3	1,9	4,8	5,6

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ 5 % Vanillin (= ca. m/8-Lösung).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Glyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,9	4,4	8,1	9,4

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,6	3,9	7,3	8,6

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-d, l-Methyläthylacetataldehyd[1]).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	90′
	1,1	4,6	7,6	8,9

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-d-Methyläthylacetaldehyd[2]).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,2	4,4	8,0	9,2

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-d, l-Methyläthylacetaldehyd-Ammoniak.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,8	4,8	8,3	9,6

---

1) Dieser racem. Valeraldehyd war nach den Angaben von V. Neustädter (Monatsh. 27, 888, 1906) gewonnen.

2) Dargestellt aus fast reinem linksdrehenden d-Amylalkohol.

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-d, l-Methyläthylacetaldehyd-Natriumbisulfit.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,4	2,5	6,8	8,3

Demnach waren Chloralhydrat und Thialdin bei höherer Konzentration (vgl. S. 165) deutlich fördernd, ersteres jedoch nur anfangs, indem später Stillstand eintrat; Vanillin wirkte hier sogar hemmend. Zwischen dem Einfluß von aktivem und racemischem Valeraldehyd bestand kein deutlicher Unterschied, das NH_3- und $NaHSO_3$-Additionsprodukt, namentlich das erstere, aktivierten ersichtlich.

F. Versuche mit frischem Saft aus Hefe vom September 1916 und Traubenzucker.

Temperatur 17°.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Iso-phtalaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	1,8	5,5	7,5	8,6	15,6

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Terephtalaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	1,5	4,2	5,5	6,5	16,9

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Piperonal (Heliotropin).

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	2,6	6,4	8,8	9,9	15,9

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Cuminol (p-Isopropyl-benz-aldehyd).

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	1,9	5,6	8,1	9,9	15,8

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-o-Phtalaldehydsäure.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	0	0	1,5	3,8	13,0

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Isophtalaldehydsäure.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	0	1,0	3,3	7,5	19,7

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Zyklocitral.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	0	0	1,9	7,0	18,8

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Formaldehyd-natriumbisulfit.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	0	0	1,0	3,7	13,2

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 % ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach . . .	30′	60′	90′	120′	17h
	0	0	1,7	5,3	13,2

Während die Piperonal, Cuminaldehyd und die Phtaldialdehyde deutliche Stimulantien sind, ist von den Phtalaldehydsäuren die Orthoverbindung ohne Einfluß. Vielleicht hängt dieses Verhalten mit der Möglichkeit zusammen, daß in der freien sogen. o-Phtalaldehydsäure gar nicht eine freie Aldehydgruppe vorhanden ist, sondern ein tautomeres γ-Oxylacton vorliegt, im Sinne der Formulierung:

$$C_6H_4\langle{}^{CHO}_{COOH} \rightarrow C_6H_4\langle{}^{CH.OH}_{CO}\rangle O .$$

Für diese Auffassung spricht der Umstand, daß nascierende o-Phtalaldehydsäure, wie sie bei der biochemischen Spaltung

von Phtalonsäure $C_6H_4\begin{smallmatrix}\diagup CO-COOH\\ \diagdown COOH\end{smallmatrix}$ auftritt, sicherlich aktiviert, s. unten Versuchsreihe G.

G. Versuche mit 24 Stunden altem Safte aus Hefe vom September 1916 und Traubenzucker.

Temperatur 18°.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
   1,0 " $^m/_{600}$-Hexamethylentetramin.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0,7	7,4

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
   1,0 " $^m/_{100}$-Phtalonsäure.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0,1	4,1	8,3

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
   1,0 " $^m/_{100}$-Opiansäure.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	4,9

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
   1,0 " $^m/_{100}$-Aceton.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	5,0

5. 10,0 ccm Saft,
   2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
   1,0 " $^m/_{100}$-Methyläthylketon.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	5,4

6. 10,0 ccm Saft,
   2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
   1,0 " $^m/_{100}$-Methylisopropylketon.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	4,3

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^{m}/_{100}$-Di-n-propylketon.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	4,5

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O (mit 20 %igem Alkohol).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0,5	5,4

Die in der Reihe G angestellten Versuche mit verschiedenen Ketonen haben, genau wie der Versuch mit dem Methyl-n-hexylketon (s. S. 160) ein negatives Ergebnis gehabt. Die Phtalonsäure[1]) ist, obgleich sie keine Aldehydsäure ist, wegen ihrer zuvor (S. 168) erwähnten Beziehung zur Orthophtalaldehydsäure aufgenommen. Das Hexamethylentetramin gab sich als schwacher Aklivator zu erkennen; die Wirkung blieb hinter der des Formaldehyds erheblich zurück. Während beim Valeraldehyd (s. vorher S. 166) die Bindung an Ammoniak eher günstig ist, kommt in der beträchtlichen Wirkungsminderung beim Hexamethylentetramin die abweichende Konstitution dieser Aldehydammoniakverbindung zum Ausdrucke.

H. Versuche mit frischem Saft aus Trockenhefe vom März 1915 und Traubenzucker.

Temperatur 18°.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^{m}/_{100}$-Methylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0,5	7,8

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^{m}/_{1000}$-Methylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	1,1

[1]) Die Phtalonsäure gärt als α-Ketosäure direkt mit Hefensaft, am besten — soweit bisher untersucht — in Form ihres sauren Kaliumsalzes; die Gärung verläuft träge.

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Opiansäure.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0,4	4,1

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Opiansäure.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	2,0

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Vanillin.

Entw. ccm. CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0,8

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Vanillin.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0,9

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,0	4,8	7,0	9,1

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ H_2O,
1,0 „ $^m/_{100}$-Önanthol.
} Probe auf Beeinflußbarkeit der Selbstgärung.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ Wasser (20 % Alkohol).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	1,1

Die Aktivierungskraft des Methylglyoxals ($^m/_{100}$) macht sich relativ spät, dann aber recht stark geltend; sie zeigt sich bei

der Opiansäure nur in der höheren Konzentration ($^m/_{10}$-Lösung) deutlich; Vanillin war wieder ohne Effekt. Der Versuch 8 tut dar, daß eine Selbstgärung sogar durch den starken Aktivator Önanthol nicht in dem Saft hervorgerufen werden kann, im Einklange mit der früher mitgeteilten Beobachtung, daß richtig bereiteter Macerationssaft zumeist keine Selbstgärung zeigt[1]).

J. Versuche mit 24 Stunden altem Saft aus Hefe vom September 1915 und Traubenzucker.

Temperatur 18.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Methylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	3,1	9,2	10,0	10,8

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Methylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	0	0	0,7	6,6

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Opiansäure.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	0	0	0	0

(Völlige Ausflockung des Hefensaftes.)

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_2$-opiansaures Kalium[2]).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	0	0	0,5	2,6

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 96, 1915.

[2]) Die Lösung des Salzes wurde frisch bereitet und sofort verwendet; es war nach der Vorschrift von R. Wegscheider, Monatshefte 3, 352, 1882, bereitet.

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Opiansäure.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	0	0	1,2	6,5

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-opiansaures Kalium.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	0	0	0	0,7

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0,1	5,0	8,2	9,0	9,6

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O (mit 20 % Alkohol).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′
	0	0	0	0	1,2

Der Vergleich der Versuche Nr. 1 und Nr. 7 zeigte, daß m/10-Methylglyoxal zwar später als m/100-Önanthol zu aktivieren begann, dann aber letzteres überholte. Auch die Opiansäure (vgl. S. 171) war in m/10-Konzentration namentlich nach $2^1/_2$ Stunden recht wirksam.

K. Versuche mit frischem Saft aus Trockenhefe vom September 1916 und Traubenzucker unter Zusatz von Propionaldehyd in verschiedenen Konzentrationen und bei niederer Temperatur (+ 11° bis 12°).

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	2h	6h	24h
	0,5	1,9	4,4

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{50}$-Propionaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	2^h	6^h	24^h
	1,1	2,7	6,3

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Propionaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	2^h	6^h	24^h
	1,2	2,7	6,7

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{1000}$-Propionaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	2^h	6^h	24^h
	0,8	2,2	4,6

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Glucoselösung.
1,0 „ $^m/_{10\,000}$-Propionaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	2^h	6^h	24^h
	0,5	1,9	4,3

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100\,000}$-Propionaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	2^h	6^h	24^h
	0,5	1,9	4,3

Aus dieser Versuchsreihe und entsprechenden mit anderen Aldehyden, von deren Wiedergabe wir absehen können, ließ sich ableiten, daß die günstigste Konzentration für die Entfaltung der Aktivatorwirkung bei den einfachen Aldehyden im allgemeinen (aber nicht immer) etwa bei der Konzentration $= {}^m/_{100}$ liegt, wenigstens unter den gewählten Bedingungen.

L. Vergleichende Versuche mit frischem Saft aus Trockenhefe vom September 1915 und Traubenzucker unter Verwendung äquimolekularer Mengen von Aldehyden, die typische Vertreter verschiedener Reihen sind.

Temperatur 17°.

Es kamen zur Anwendung:

a) Anisaldehyd als Vertreter der Ätheraldehyde,

b) Zimtaldehyd als Vertreter der ungesättigten aromatischen Aldehyde,

c) Furfurol als Vertreter der heterozyklischen Aldehyde,

d) Benzaldehyd als Vertreter der aromatischen Aldehyde,

e) Önanthol als Vertreter der „körperfremden“ Aldehyde[1]),

f) Isovaleraldehyd (aus Gärungsamylalkohol) als Vertreter der gewöhnlichen aliphatischen Aldehyde,

g) Formaldehyd als Anfangsglied der Reihe,

h) Citral als doppeltungesättigter Aldehyd und

f) Acetaldehyd zum Vergleich.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,5	4,8	6,2	7,8

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,0	5,2	6,6	8,0

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,4	6,0	7,5	8,5

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,4	4,3	7,2	8,4

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,3	5′0	6,8	8,7

[1]) Während eine große Anzahl der benutzten Aldehyde als häufig vorkommende Naturprodukte bekannt sind, scheint das Önanthol nicht dazu zu gehören; bei der Gewinnung aus Gingerol, dem scharf schmeckenden und riechenden Bestandteil des Ingwers (A. Lapworth, L. K. Pearson und F. A. Royle, Journ. Chem. Soc. **111**, 777, 1917), tritt der n-Heptylaldehyd auch nur als ein Abbauprodukt auf.

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,2	4,0	6,5	8,3

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,0	5,6	8,8	9,0

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,5	5,7	8,5	9,1

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,3	6,0	9,0	9,8

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0,5	4,8	7,1

Betrachtet man den nach 1 Stunde erreichten Zustand, wo die ohne künstlichen Aktivator belassene Kontrollprobe (Nr. 10) gerade zu gären begonnen hat, so ergibt sich die durch die aldehydischen Stimulatoren bei den einzelnen Ansätzen erzielte Gärungsbeschleunigung zu 800 bis 1200 %.

M. Aktivierung der Traubenzuckergärung durch verschiedene typische Aldehyde in m-Konzentration[1]).

Temperatur 17°, Saft aus Hefe vom September 1916.

[1]) Sämtliche m-Aldehydlösungen wurden mit 95 %igem Alkohol hergestellt; letzterer selbst übt keinen schädlichen Einfluß auf den Saft aus (s. Kontrolle durch Versuch Nr. 10).

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,0	7,4	11,6

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,5	8,4	10,5

(Kräftige Ausflockung des Saftes.)

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	4,4	9,2	10,7	11,9

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,1	3,3	5,0

(Mittelstarke Fällung des Saftes.)

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,6	10,2	11,5	12,5

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,9	5,0	5,5

(Stärkere Trübung im Saft.)

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5%ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	3,9	9,4	11,9

(Erhebliche Trübung des Gemisches.)

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	4,1	8,8	10,9	11,9

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ Alkohol von 95 %.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0,1	6,4	8,8

Trotz der hohen Konzentration, die vielfach zu Niederschlagsbildungen führte, lassen alle Aldehyde bis auf den Formaldehyd, der in dieser Stärke die Gärung einfach unterbindet, den Aktivierungseffekt erkennen, z. B. nach 30 Minuten oder einer Stunde. Beim Benzaldehyd und Isovaleraldehyd machte sich dann jedoch zum Beginne der zweiten Stunde eine Hemmung geltend, während Furfurol und Önanthol ihren fast stets zu beobachtenden bedeutenden Einfluß auch unter diesen abnormen Verhältnissen äußerten.

Das hochmolekulare Citral ist trotz des Gehaltes von 0,1552 g in 13 ccm der Mischung kräftig wirksam.

N. Aktivierung der Traubenzuckergärung durch verschiedene typische Aldehyde in $^m/_{10}$-Konzentration.

Temperatur 19°; Saft aus Hefe vom September 1916.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	4,7	7,1	8,9	10,2

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,4	5,6	8,0	9,1

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,2	4,8	7,0	8,9

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,9	6,7	8,6	9,5

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	5,1	8,8	10,6	11,6

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	7,0	9,7	10,9	11,7

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	6,5	9,3	10,5	11,2

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,5	7,5	8,4	9,2

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/10-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	5,0	8,0	10,1	11,1

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O (mit 20 %igem Alk.).

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	1,9	4,5

Auffallend ist der kräftige Einfluß des Formaldehyds in der hohen Konzentration von m/10-Lösung; seine Wirkung wird hier nur durch die des Isovaleraldehyds übertroffen, reicht aber z. B. über die des Acetaldehyds heraus; man kann dabei, wie auch sonst beobachten, daß die Ansätze mit Acetaldehyd zwar sehr schnell angehen, aber nach wenigen Minuten von solchen mit anderen aldehydischen Aktivatoren überholt werden.

O. Aktivierung der Traubenzuckergärung durch verschiedene typische Aldehyde in m/100-Konzentration.

Temperatur 20°; Saft aus Hefe vom September 1916.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	4,0	6,7	10,0	12,3

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,7	6,0	9,4	12,5

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1;0 „ m/100-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	5,3	8,3	12,0	15,8

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	6,0	8,2	10,4	11,9

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	5,9	9,8	14,1	17,0

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,2	6,3	11,0	14,4

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,9	5,8	8,0	9,8

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,8	8,5	13,3	15,2

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,5	8,9	11,9	14,0

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 " H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0,5	8,9	13,9

Bis zum Ende der ersten Stunde waren die von den Aktivatoren bewirkten Ausschläge erheblich, da Beschleunigungen

der Gärung um das 11- bis 20fache erfolgten. Bei der höheren Temperatur, die in dieser Reihe angewendet worden ist, wurde der Endzustand jedoch schneller erreicht, so daß nach $1^1/_2$ Stunden die Unterschiede sich zu verwischen begannen.

P. Aktivierung der Traubenzuckergärung durch verschiedene typische Aldehyde in $^m/_{1000}$-Konzentration.

Temp. 15,5°; Saft aus Trockenhefe vom September 1916.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
   1,0 „ $^m/_{1000}$-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	4,0	6,1

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
   1,0 „ $^m/_{1000}$-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	4,4	7,2

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
   1,0 „ $^m/_{1000}$-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	4,0	6,4

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
   1,0 „ $^m/_{1000}$-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	3,5	6,0

5. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
   1,0 „ $^m/_{1000}$-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	3,3	8,0

6. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
   1,0 „ $^m/_{1000}$-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	4,8	8,3

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/1000-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	2,5	5,1

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/1000-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	1,9	5,9

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ m/1000-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	1,1	4,7

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0,9	4,8

In dieser Reihe setzte die Gärung nach 55 Minuten bei Nr. 2, 4 und 6 ein, nach 70 Minuten bei Nr. 1, 3, 5 und 7 und nach 80 Minuten ziemlich gleichzeitig bei Nr. 8, 9 und 10.

Das Stimulierungsvermögen trat bei dieser außergewöhnlichen Verdünnung überall, am stärksten beim Isovaleraldehyd zutage; die noch recht wirksame Formaldehydmenge beträgt 3 Hunderttausendstel Gramm in 13 ccm Flüssigkeit.

Q. Versuche über die Beeinflussung der Mannosegärung.

Temperatur 21°; Saft aus Hefe vom September 1915, 24 Stunden alt.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Isophtalaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21h
	0	3,6	7,8	8,7	12,9

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Isophtalaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	4,3	6,9	8,7	15,9

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Piperonal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	3,6	5,8	6,8	14,7

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Cuminol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	3,8	6,5	7,5	15,6

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-phtalaldehydsaures Kalium.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	0	0,8	1,1	14,8

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-isophtalaldehydsaures Kalium.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	0	0,9	1,7	16,4

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Zyklocitral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	0	1,1	2,8	14.4

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-formaldehydschwefligsaures Natrium.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21^h
	0	0	0,8	2,5	12,0

9. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 % ige Mannoselösung,
   1,0 „ m/100-Hexamethylentetramin.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21h
	0	0	0,9	1,9	14,5

10. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 % ige Mannoselösung,
   1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	21h
	0	0	0,7	2,1	13,2

In Übereinstimmung mit den Erfahrungen bei der Aktivierung der Traubenzuckergärung zeigten sich auch bei dem Umsatz der Mannose die einfachen Aldehyde und Dialdehyde als recht wirksam; die wenig dissoziierten Derivate des Formaldehyds übten hier ebenfalls keinen förderlichen Einfluß.

R. Aktivierung der Mannosegärung.

Temperatur 18°; frischer Saft aus Hefe vom September 1916.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 % ige Mannoselösung,
   1,0 „ m/100-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,5	8,0	9,8	10,6

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 % ige Mannoselösung,
   1,0 „ m/100-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	3,1	5,5	7,6	8,5

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 % Mannoselösung,
   1,0 „ m/100-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,9	4,5	6,1	7,7

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	3,0	60′	90′	120′
	1,0	5,2	7,0	7,8

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,9	9,4	11,7	12,2

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,0	3,0	4,7	7,3

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,8	3,6	5,9	7,0

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,6	6,6	10,8	11,8

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/100-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	80′	120′
	2,8	6,3	9,0	10,4

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0,45	3,6

Aus diesen Versuchen, die den Stimulationseffekt für die Mannose auf das deutlichste zeigen, geht auch hervor, daß die

Mannose für das Studium dieser Erscheinungen ein besonders geeigneter Zucker ist, da ihre natürliche Vergärung unter den obwaltenden Bedingungen etwas langsamer als die der Glucose erfolgte. Sie setzte nämlich erst nach 70 Minuten ein, nach 73 Minuten war gerade 0,1 ccm CO_2 entwickelt.

Deshalb wurde auch vergleichsweise der Einfluß der Stimulantien bei verschiedenen Konzentrationen festgestellt (siehe Versuchsreihen S, T und U).

S. Aktivierung der Mannosegärung durch verschiedene typische Aldehyde in $^m/_{10}$-Konzentration.

Temp. 16°; Saft aus Trockenhefe vom September 1915.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{10}$-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0,4	4,4	8,1	9,1	10,2	11,3

2. 10,0 ccm Saft
   2,0 „ 5%ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{10}$-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0,7	5,4	8,2	9,6	10,6	11,6

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{10}$-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	1,7	6,9	8,6	9,7	10,6	11,5

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{10}$-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0,5	3,7	7,9	9,8	10,5	11,1

5. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5%ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{10}$-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	2,9	7,7	10,2	11,1	12,1	12,5

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0,3	5,4	7,6	8,8	9,8	10,7

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0,3	6,0	9,1	10,7	11,6	12,4

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0,1	0,8	5,7	9,1	10,3	11,3

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	1,0	7,3	9,8	11,0	11,6	12,1

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{10}$-Phenylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0	0,1	2,4	7,5	9,2	10,8

11. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5\,^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′	150′	180′
	0	0	0	0	3	4,4

Bei der niedrigeren Temperatur und mit dem Saft aus anderer Hefe waren 'die Unterschiede zwischen normaler und aktivierter Gärung der Mannose noch augenfälliger.

T. Aktivierung der Mannosegärung durch verschiedene typische Aldehyde in $^m/_{100}$-Konzentration.

Temperatur 17°; Saft wie bei S.

1. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{100}$-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,5	4,5	6,1

2. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{100}$-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	3,2	5,9	7,2

3. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{100}$-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,4	4,0	6,1	7,1

4. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{100}$-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,5	3,8	6,5	7,4

5. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{100}$-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,2	5,2	8,0	9,4

6. 10,0 ccm Saft,
   2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
   1,0 „ $^m/_{100}$-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,2	4,3	6,8	8,2

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,9	5,2	6,8

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0,4	2,9	5,9

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	4,0	7,0	7,8

10. 10,0 ccm Saft.
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Phenylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0,9

11. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Mannoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0

12. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	2,0

13. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ Fructoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	1,2	5,3	6,9	8,2

14. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75 %ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	2,7	6,9	7,9	8,1

Die fördernde Wirkung der Aktivatoren trat in den Versuchen 1 bis 11 deutlich hervor. Zum Vergleiche waren die Versuche 12, 13 und 14 mit Trauben-, Frucht- und Rohrzucker gleichzeitig angestellt. Glucose blieb erheblich zurück, dagegen goren Fructose und Saccharose allein mindestens ebenso gut wie die Mannose mit Aktivatoren; am besten gor der Rohrzucker; vielleicht treten bei der Inversion die beiden Hexosen in einer reaktionsfähigeren, zur alkoholischen Zuckerspaltung besonders geeigneten Modifikation auf, oder es liegt eine Stimulation der Glucosegärung durch den Fruchtzucker (s. S. 151) vor [1]).

U. Aktivierung der Mannosegärung durch verschiedene typische Aldehyde in $^m/_{1000}$-Konzentration.

Temperatur 18°; Saft wie zuvor.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{1000}$-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	120′
	2,0

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{1000}$-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	120′
	5,9

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ $^m/_{1000}$-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	120′
	1,7

[1]) Der ersten Möglichkeit hat einmal Th. Bokorny (Arch. f. d. ges. Physiol. 164, 203) gedacht, ohne aber die zweite in Betracht zu ziehen.

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Benzaldehyd.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
1,5

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Önanthol.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
1,8

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Isovaleraldehyd.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
1,3

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Formaldehyd.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
2,0

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Citral.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
2,5

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Acetaldehyd.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
1,6

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ m/1000-Phenylglyoxal.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
0,8

11. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 %ige Mannoselösung,
1,0 „ H_2O.
Entw. ccm CO_2 nach . . . . 120′
0

Für die sehr dünne Konzentration der $^m/_{1000}$-Lösungen wurde die Temperatur etwas höher gewählt; alle Aktivatoren übten ihren fördernden Einfluß in unverkennbarer Weise aus.

V. Beeinflussung der Fruchtzuckergärung.

Vergleichende Versuche bei 18,5° mit Saft aus Trockenhefen vom März und September 1915 und 5%iger Fructoselösung gaben keine deutlichen Ausschläge bei Verwendung von $^m/_{10}$-Lösungen der aldehydischen Aktivatoren. Bei den Ansätzen mit $^m/_{10}$-Furfurol, $^m/_{10}$-Acetaldehyd und $^m/_{10}$-Önanthol setzte die Gärung zwar fast sofort, jedenfalls schneller als in der Kontrollprobe ohne Aktivator ein, aber die Unterschiede verwischten sich bald; andererseits verlangsamte der Formaldehyd in $^m/_{10}$-Konzentration die lebhafte Gärung der reinen Fruchtzuckerlösung.

Wir gingen deshalb mit der Temperatur wie mit der Stärke der Aktivatoren herab und verdünnten zugleich den Hefesaft mit 100% Wasser; damit erreichten wir den gewünschten Erfolg.

Temp. 15°; Saft aus Trockenhefe vom September 1915, mit der gleichen Menge Wasser verdünnt.

1. 10,0 ccm Saft,
 2,0 „ 5%ige Fructoselösung,
 1,0 „ $^m/_{100}$-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,5	5,2	6,5

2. 10,0 ccm Saft,
 2,0 „ 5%ige Fructoselösung,
 1,0 „ $^m/_{100}$-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,4	4,4	5,4

3. 10,0 ccm Saft,
 2,0 „ 5%ige Fructoselösung,
 1,0 „ $^m/_{100}$-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,5	3,5	6,8	8,0

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	20′	60′	90′	120′
	0	2,3	6,2	7,4

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,1	5,7	7,3

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,2	6,6	7,9

7. 10,0 Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,9	55,	7,3

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,2	7,0	8,1

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,6	3,4	7,0	7,9

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 " $5^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 " $^m/_{100}$-Methylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0,4	2,8	6,1	8,2

11. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 $^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Phenylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,7	5,6	8,3

12. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 $^0/_0$ ige Fructoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,3	3,8	4,4

13. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 $^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	4,1

14. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5 $^0/_0$ ige Mannoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	0	0	0

15. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75 $^0/_0$ ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,3	7,1	8,0

Die Ausschläge sind immerhin deutlich genug, um auch an der Aktivierbarkeit der Fruchtzuckervergärung keinen Zweifel zu belassen. Zum Vergleich sind in den Versuchen 13—15 wieder Ansätze mit Traubenzucker, Mannose und Saccharose angestellt gewesen, die das charakteristische Bild hinsichtlich der Unterschiede im Gärungsverlaufe dieser verschiedenen Kohlenhydrate darbieten.

W. Beeinflussung der Rohrzuckergärung.

Entsprechend der schnellen Angärung des Rohrzuckers schon in der Norm gelingt der Nachweis der Aktivatorwirkung bei diesem Kohlenhydrat am sichersten bei niederer Temperatur und bei Benutzung von aufs doppelte verdünntem Hefensaft.

Temperatur 14,5°; Saft wie zuvor.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Anisaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	1,7	5,2	5,9

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Zimtaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,9	4,7	5,3

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Furfurol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	4,1	5,9	6,5

4. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Benzaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	2,7	5,6	6,5

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Önanthol.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	3,9	6,0	6,7

6. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Isovaleraldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	3,3	6,1	6,8

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 4,75%ige Rohrzuckerlösung,
1,0 „ m/100-Formaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	3,1	5,5	5,9

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 4,75 % ige Rohrzuckerlösung,
1,0 " m/100-Citral.

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	1,2	4,3	5,5

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 4,75 % ige Rohrzuckerlösung,
1,0 " m/100-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	2,9	4,8	5,7

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 4,75 % ige Rohrzuckerlösung,
1,0 " m/100-Phenylglyoxal.

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	4,1	6,5	7,3

11. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 4,75 % ige Rohrzuckerlösung,
1,0 " m/100-Aldehydgemisch[1]).

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	4,0	6,0	6,9

12. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 4,75 % ige Rohrzuckerlösung,
1,0 " H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	2,7	5,1	5,6

13. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	0	0	0,1

14. 10,0 ccm Saft,
2,0 " 5 % ige Glucoselösung,
1,0 " m/100-Acetaldehyd.

Entw. ccm CO_2 nach	30'	60'	90'	120'
	0	2,5	5,0	5,5

---

[1]) Es wurden gleiche Mengen der Aldehyde Nr. 1 bis 8 und Nr. 10 gemischt; d. h. alle außer Acetaldehyd angewendet. In 1 ccm war von jedem der 9 Aldehyde 1/9 der sonst benutzten Quantität zugegen.

15. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Aldehydgemisch.

Entw. ccm CO_2 nach	30′	60′	90′	120′
	0	5,0	6,2	6,7

Für die meisten Aktivatoren war eine Beschleunigung der Rohrzuckervergärung deutlich zu erkennen. Versuch Nr. 13 zeigte die viel langsamere Gärung der Glucose unter gleichen Bedingungen, Versuch Nr. 14 deren typische Stimulation durch einen Aldehyd. Hervorzuheben ist das Ergebnis der Versuche Nr. 11 und Nr. 15; es lehrt, daß dem komplexen Aldehydgemisch das Aktivierungsvermögen der Bestandteile zukommt, daß seine Stimulationskraft ziemlich bedeutend und beispielsweise der des gut wirkenden Acetaldehyds überlegen ist.

X. Über den Einfluß von Toluol auf die aldehydische Aktivatorwirkung.

Bei der kurzen Dauer der einzelnen Versuche, bei den im Versuchsplan gelegenen Eigenkontrollen und angesichts der keimtötenden Kraft vieler der angewendeten Aldehyde konnte von der Anwendung besonderer Desinfektionsmittel für gewöhnlich Abstand genommen werden.

Zu einem anderen Zwecke wurden Ansätze mit Zugaben von Toluol gemacht. Viele der Aldehyde sind nämlich lipoidlöslich, und es war denkbar, daß die Anwesenheit eines geradezu extrahierenden Solvens die Vorgänge auf eine Art beeinflussen konnte, die für die Wirkungsweise solcher Antiseptica auf Atmungsvorgänge[1]) und rein enzymatische Reaktionen von Belang ist.

Um das Ausschüttelungsvermögen des Toluols zur Geltung zu bringen, geschah die Füllung der Eudiometerröhren folgendermaßen. Zuerst wurde die Zuckerlösung (2,0 ccm) hineingebracht, dann das Toluol (1,0 ccm), darauf die Aldehydlösung (1,0 ccm) und schließlich der Saft (10,0 ccm), so daß also die beiden letzteren durch die Toluolschicht hindurchlaufen mußten.

[1]) Vgl. J. Stoklasa, Ber. 38, 664, 1905.

Die so bewirkte, teilweise nicht erschöpfende Herauslösung durch das Toluol entspricht etwa den Verhältnissen bei der üblichen Anwendung dieses Antisepticums.

Temperatur 18°; Saft aus Hefe vom September 1915.

1. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5% ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Anisaldehyd,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	80′	120′
	2,0	3,3	4,5

2. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5% ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Zimtaldehyd,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	2,2	4,3	5,2

3. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5% ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Furfurol,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	2,2	3,2	4,0

4. 10,0 ccm Saft.
2,0 „ 5% ige Glucoselösung.
1,0 „ m/100-Benzaldehyd,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	1,6	3,0	3,8

5. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ 5% ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Önanthol.
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	2,7	4,1	4,7

6. 10,0 ccm Saft.
2,0 „ 5% ige Glucoselösung,
1,0 „ m/100-Isovaleraldehyd,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	1,3	3,3	4,5

7. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Formaldehyd,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	1,2	3,4	4,2

8. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$ Citral,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	1,1	3,1	4,5

9. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Acetaldehyd,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	3,0	4,1	4,9

10. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Phenylglyoxal,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	1,7	4,2	5,1 .

11. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ $^m/_{100}$-Aldehydgemisch[1]),
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	3,1	4,6	5,4

12. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O,
1,0 „ Toluol.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	0,1	3,0	4,0

13. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ $5^0/_0$ ige Glucoselösung,
1,0 „ H_2O.

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	0	4,6	6,1

---

[1]) Vgl. Anm. 1 auf S. 197.

14. 10,0 ccm Saft,
2,0 „ Glucoselösung,
1,0 „ Aldehydgemisch[1]).

Entw. ccm CO_2 nach	60′	90′	120′
	4,1	5,6	6,3

Den Daten ist zu entnehmen, daß die Toluolzugabe den Aktivierungseffekt wohl herabsetzt, aber nicht aufzuheben vermag; das Verhalten steht im Einklange mit der Verteilung der Aldehyde auf die wäßrige und lipoide Schicht. Beachtenswert erscheint wieder die kräftige Wirkung des Aldehydgemisches, die das Stimulationsvermögen der Bestandteile übertrifft.

Das ganze Verhalten der Aldehyde weist viel Ähnlichkeit mit der früher schon von uns beschriebenen[2]) Aktivierungskraft der verschiedenen α-Ketosäuren auf. In Fortsetzung dieser Untersuchungen waren Neuberg und Schwenk[3]) zu Ergebnissen gelangt, die eine Beziehung zwischen dieser α-Ketosäurewirkung und dem Koferment der Hefe nahelegten. Es zeigte sich, daß die wesentlichen Eigenschaften sowie das Verhalten des Kofermentes mit der Annahme gut vereinbar sind, daß die α-Ketosäuren einen wichtigen Bestandteil des komplexen Kofermentes ausmachen.

Man wird nun die Frage stellen, ob diese Hypothese jetzt dahin erweitert werden darf, daß auch Aldehyde am Zustandekommen der Kofermentwirkung Anteil haben können. Einen Gehalt des Kofermentes an niederen flüchtigen Aldehyden kann man wohl ohne weiteres ausschließen, da die Kofermentpräparate durch einfaches Einengen der wirksamen Lösungen gewonnen werden; dagegen könnten höhere, nicht wegdampfende Aldehyde mit im Spiele sein.

Da nun die α-Ketosäuren unter den Bedingungen der Kofermentbetätigung stets durch die Carboxylase in Aldehyde und Kohlendioxyd gespalten werden, so scheint es nicht angebracht, zwischen diesen beiden in chemischer Hinsicht und im biologischen Verhalten (Aktivierungseffekt) einander so nahestehenden Gruppen einen grundlegenden Unterschied zu machen.

---

[1]) Vgl. Anm. 1 auf S. 197.
[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 75 u. 83, 1915.
[3]) C. Neuberg und E. Schwenk, diese Zeitschr. 71, 135, 1915.

Chemisch und biologisch gesprochen sind die α-Ketosäuren einfach carboxylierte Aldehyde. Demgemäß bestehen zwischen beiden Körperklassen keine nennenswerten Differenzen in allen jenen Punkten, die Neuberg und Schwenk zugunsten der Anschauung anführen konnten, daß α-Ketosäuren bzw. ketosaure Salze eine Komponente des Kofermentes darstellen. Trifft diese Theorie zu, so treten Aldehyde als Spaltungsprodukte der α Ketosäuren in Wirksamkeit, ganz unabhängig von der Frage, ob sie im Koferment präformiert vorkommen oder erst beim Gärakt durch die Carboxylase erzeugt werden.

Wie Neuberg nnd Schwenk (l. c.) schon im Jahre 1915 hervorgehoben haben, ist die Entfaltung einer kofermentartigen Wirkung der α-Ketosäuren an die Gegenwart von Kaliumphosphat geknüpft. Sie geben l. c. an: „Erst als das Gemisch einer größeren Reihe von ketosauren Salzen und Dikaliumphosphat verwendet wurde, hatten wir einen Erfolg zu verzeichnen", und weiter: „Auch die Gegenwart von anorganischen einfachen Phosphaten hat sich als unbedingt erforderlich erwiesen"[1]. Bei den Versuchen selbst ist dann die Zusammensetzung des angewendeten Salzgemisches wie folgt genau beschrieben: „1,0 ccm eines Gemisches, das die Salze sämtlicher oben angeführten α-Ketosäuren in m-Lösung enthält und im Gehalt an K_2HPO_4 molekular war."

Diesen Feststellungen gegenüber können wir in der nunmehr auch jüngst von A. Harden[2]) gemachten Angabe, daß Kaliumphosphat für den Eintritt der künstlichen Aktivatorwirkung erforderlich sei, nichts Neues erblicken; wir haben jedenfalls bereits Kalium- und Phosphationen in unzweideutiger Weise als notwendig beschrieben, Harden hat aber diesen Befund dahin erweitert, daß das Kaliumion nicht durch Natrium, jedoch durch Ammonium ersetzt werden kann. Seine weitere Mitteilung,

[1]) Vielleicht ist das Phosphat unerläßlich, da es zur Bereitung von Fructosediphosphorsäure dient. Wenn letztere auch keineswegs mit dem Koferment identisch ist, so ist es jedoch nicht ausgeschlossen, daß sie in das Getriebe des Aktivatorenapparates eingreift; so würde das Fruchtzuckerdiphosphat, wenn auch nicht als Zwischenstufe, so doch im Stimulatorensystem der alkoholischen Gärung eine Rolle spielen. (Neuberg, Färber, Lewite und Schwenk, diese Zeitschr. **83**, 244, 1917.)

[2]) Biochem. Journ. **11**, 64, 1917.

daß ein einzelnes ketosaures Salz, z. B. brenztraubensaures Kalium, oder ein einzelner Aldehyd, der Acetaldehyd, kofermentfreie Hefenpräparate weitgehend kompletieren könne, vermochten wir nicht zu bestätigen; wir erhielten damit, genau wie früher, negative Ergebnisse. Möglicherweise hängt dieses Verhalten mit den seit vielen Jahren in zahlreichen Fällen festgestellten Unterschieden zwischen den deutschen und englischen Hefen zusammen. Außerdem arbeiteten wir mit untergärigem, Harden jedoch mit obergärigem Material. Hierzu kommt, daß Harden z. T. Trockenhefe angewendet hat, die nach einer Angabe von Euler und Bäckström durch einfaches Waschen mit Wasser „koenzymfrei" gemacht, aber allem Anscheine nach nicht nachträglich mit Aceton behandelt worden war. Jedoch ergibt dieses Verfahren nach Harden keine zuverlässigen Präparate wegen des Gehaltes an lebenden Zellen; diese können nämlich nach einiger Zeit Koferment nachliefern[1]).

Von neuem erhielten wir dagegen gute Resultate, als wir wiederum eine Vielheit von ketosauren Salzen mit Kaliumphosphat als künstliches Koferment benutzten.

Wir teilen eine Versuchsreihe mit, die sogar eine bessere Wirkung des künstlichen Aktivatorengemisches als früher zu erkennen gibt.

Dazu bemerken wir, daß die Versuchsanordnung wie früher gewählt worden ist.

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Daß tatsächlich eine unvollständige Entfernung des natürlichen Kofermentes die Resultate Hardens beeinflußt haben dürfte, geht aus einer soeben erschienenen Mitteilung von O. Meyerhof (Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 165, 1918) hervor. Bei Gelegenheit anderer wichtiger Versuche, denen zufolge ein mit dem Koferment der Hefe identischer oder nahe verwandter Stoff in Tiergeweben vorkommt, gelangt der Verfasser u. a. auch zu unserem früheren Ergebnis, daß brenztraubensaures Salz gänzlich kofermentfreie Enzympräparate zu keiner irgendwie merklichen Gärung anregt. Er zeigt ferner, daß ein viel gründlicheres Auswaschen der dialysablen Bestandteile erforderlich ist, um wirklich kofermentfreies Zymasematerial zu gewinnen. Demnach ist Hardens abweichendes Resultat vermutlich auf ungenügende Reinigung seiner „kofermentfreien" Fermentsubstanz zurückzuführen, während wir die Trennung weit genug getrieben hatten.

α) 20,0 ccm dialysierter Saft aus Unterhefe vom September 1915,
10,0 " $^m/_4$-Rohrzuckerlösung,
1,0 " m-Salzgemisch (10 ketosaure Kalisalze + K_2HPO_4),
1,0 " Toluol.

β) 20,0 ccm dialysierter Saft,
10,0 " $^m/_4$-Rohrzuckerlösung,
1,0 " H_2O,
1,0 " Toluol.

γ) 20,0 ccm dialysierter Saft,
10,0 " $^m/_4$-Rohrzuckerlösung,
1,0 " natürliches Koferment,
1,0 " Toluol.

δ) 20,0 ccm dialysierter Saft,
10,0 " Wasser,
1,0 " m-Salzgemisch,
1,0 " Toluol.

Gemessene Menge CO_2 in Kubikzentimetern				
Zeit in Stunden	α	β	γ	δ
2,5	0,7	0	1,0	0
5,0	3,3	0,2	4,2	0
24,0	20,3	0,8	28,4	0,5
48,0	20,8	0,8	29,3	0,5

Demgemäß wirkte das natürliche Koferment (γ) nur unerheblich kräftiger als das künstliche Aktivatorengemisch (α); die Selbstgärung (δ) des dialysierten Saftes war auch in Gegenwart der Stimulantien nahezu null, und die Kontrolle (β), mit dem dialysierten Saft ohne eine Aktivatorzugabe, zeigte die praktisch völlige Beseitigung des natürlichen Kofermentes an.

Somit finden unsere Versuche aus dem Jahre 1915 eine Bestätigung, und es ergibt sich von neuem die Berechtigung für die von uns zuerst begründete Annahme von Beziehungen der α-Ketosäuren zum Koferment.

Über den Nachweis der d-Glucuronsäure und ähnlich sich verhaltenden Säuren mittels der Naphthoresorcinreaktion.

Von

A. W. van der Haar, Utrecht.

(Eingegangen am 8. März 1918.)

Im Jahre 1908 veröffentlichte B. Tollens[1]) eine empfindliche Reaktion auf die damals nur im Tierreiche, nachher auch im Pflanzenreiche neben ähnlichen Säuren aufgefundene oder wahrscheinlich gemachte d-Glucuronsäure. Diese Reaktion wird mit Naphthoresorcin angestellt und folgendermaßen ausgeführt. Zu der wässerigen Lösung der Säure wird ein gleiches Volumen 38 %iger Salzsäure gegeben und die Mischung mit etwas Naphthoresorcin oder mit 1 ccm seiner 1 %igen alkoholischen Lösung während einer Minute in schwachem Sieden gehalten. Nach Abkühlung des Reaktionsgemisches während 5 Minuten wird mit Äther ausgeschüttelt. Wenn d-Glucuronsäure vorliegt, ist der Äther schön rotviolett gefärbt und zeigt im Spektralapparat einen die D-Linie bedeckenden dunkeln Streifen.

Nach Tollens (l. c.) geben die Saccharide die gleiche Reaktion mit dem Naphthoresorcin, aber mit dem Unterschiede, daß bei diesen Substanzen der Farbstoff nicht in den Äther übergehen soll, wodurch die Reaktion spezifisch für die d-Glucuronsäure wäre.

Im Jahre 1911 zeigten Neuberg und Saneyoshi[2]) jedoch, daß die Ätherausschüttelung nicht sehr geeignet ist, weil die Reaktion dabei wenig spezifisch für die d-Glucuronsäure wird; sie benutzten nun statt des Äthers Benzol, das nur die

[1]) B. Tollens, Über einen einfachen Nachweis der Glucuronsäure mittels Naphthoresorcin, Salzsäure und Äther. Ber. **41**, 1788 bis 1790, 1908.

[2]) C. Neuberg und Saneyoshi, Über den Nachweis kleiner Mengen Glucuronsäure als Osazon. Diese Zeitschr. **36**, 56 bis 59, 1911.

von der d-Glucuronsäure stammende Färbung in sich aufnimmt, überdies den Vorteil hat, daß die Reaktion ebenso auf die Osazone der Glucuronsäure angewandt werden kann.

Neuberg und Saneyoshi (l. c.) verfahren dabei wie folgt:

„8 mg Osazon werden bei gewöhnlicher Temperatur in 4 ccm 38%iger Salzsäure gelöst, die Lösung mit 4 ccm Wasser und 100 mg Naphthoresorcin während $^1/_2$ Minute erhitzt. Alsdann wird langsam auf 50° abgekühlt und die Flüssigkeit mit Benzol ausgeschüttelt. Wenn d-Glucuronsäure vorliegt, ist das Benzol violett gefärbt und zeigt im Spektroskop den dunkeln Streifen auf der D-Linie."

Wie aus Nachstehendem hervorgehen wird, konnte ich den Befund von Neuberg und Saneyoshi völlig bestätigen. Erst durch die genannte Verbesserung ist es möglich geworden, die d-Glucuronsäure von den Sacchariden sicher zu unterscheiden.

Es will uns etwas unbegreiflich erscheinen, daß die „Benzolausschüttelung" praktisch nicht mehr von den Fachgenossen benutzt wird. Und doch ist sie als ganz wesentlich zu betrachten.

Es wird nämlich allgemein aufgefallen sein, daß in der allerjüngsten Zeit häufig von der d-Glucuronsäure in Pflanzenstoffen die Rede ist, indem einfach nach der Farbe der „Ätherausschüttelung" ohne weiteres auf die d-Glucuronsäure geschlossen wird. Die verschiedenen Fälle dieser Art werde ich hier nicht aufzählen. Es droht hier aber eine große Verwirrung im d-Glucuronsäurenachweis, gegen die Stellung genommen werden muß.

Bei F. Ehrlich[1]) finden sich z. B. derartige Fälle, wo nur nach der Naphthoresorcinreaktion (und überdies noch nach der Ätherausschüttelung) ohne weiteres auf d-Glucuronsäure geschlossen wird. In mehreren pflanzlichen Stoffen begegnete er der d-Galacturonsäure, die als Aldehydschleimsäure ebenso die Naphthoresorcinreaktion gibt. Indem wir einer genaueren Veröffentlichung Ehrlichs vorerst entgegensehen, ergibt sich, daß man auch der d-Galacturonsäure Rechnung zu tragen haben wird. Für die Kennzeichnung der d-Galacturonsäure wäre es übrigens erwünscht, die Galactose mittels Lactosehefe zuvor völlig zu vergären; erst dann erhält die Schleimsäurereaktion

[1]) Ehrlich, Die Pektinstoffe, ihre Konstitution und Bedeutung. Chem. Ztg. 41, 197, 1917.

für den d-Galacturonsäurenachweis größeren Wert, da ja auch die Aldehydschleimsäure die gleiche Reaktion gibt.

Nicht allein kann die Farbe der Ätherausschüttelung durch Saccharide vorgetäuscht werden, sondern Mandel und Neuberg[1]) haben schon im Jahre 1908 darauf hingewiesen, daß allgemein Säuren, die die Konfiguration COH.... COOH, und ... — CO — COOH, wie Aldehydschleimsäure (Galacturonsäure), Brenztraubensäure, Mesoxalsäure, ebenso die Reaktion hervorrufen, abgesehen noch davon, daß die genannten Autoren auch andere Substanzen auffanden, die, wenn sie mit geeigneten Oxydationsmitteln behandelt waren, z. B. Weinsäure, Schleimsäure, Zuckersäure usw., die gleiche Reaktion lieferten. Es sei indes bemerkt, daß M. und N. 1908 noch nicht nach der Benzolausschüttelung arbeiteten, die späteren Datums ist und erst 1911 von Neuberg und Saneyoshi angegeben wurde. Bei Glucosiden usw. kommen zwar wahrscheinlich diese Säuren nicht vor; dies kann jedoch nicht positiv behauptet werden. Suarez[2]) hat nämlich in Zitronen die Aldehydschleimsäure entdeckt; indessen gibt Suarez (l. c.) nicht an, ob er mit Äther oder mit Benzol den Farbstoff bei der Naphthoresorcinprobe ausgeschüttelt hat.

Da wir wissen, daß im allgemeinen niemals eine Identifizierung mittels einer Reaktion stattfinden kann, diese uns vielmehr nur instand setzen kann, Substanzgruppen nachzuweisen, will es uns völlig begreiflich erscheinen, daß von einer Glucuronsäureidentifizierung nur nach der Napththoresorcinreaktion und noch viel weniger nach der „Ätherausschüttelung" keine Rede sein soll.

Wenn wir indessen nach der „Benzolausschüttelung" verfahren, werden jedenfalls die Saccharide ausgeschlossen. Es bleibt also noch übrig, daß die Reaktion auch von der Aldehydschleimsäure (d-Galacturonsäure) sowie anderen Substanzen gegeben wird.

Beabsichtigt man, eine abgetrennte Säure als d-Glucuronsäure zu identifizieren, so kommen dafür in Betracht die

---

[1]) Mandel und Neuberg, Naphthoresorcin als Reagens auf einige Aldehyd- und Ketosäuren. Diese Zeitschr. **13**, 148 bis 151, 1908.

[2]) Suarez, Ein Isomeres der Glucuronsäure. Chem. Ztg. **41**, 87, 1917.

Summe der folgenden Eigenschaften und Verbindungen (wenigstens 1 bis 8):

1. Die Naphthoresorcinreaktion nach Tollens, mit der Benzolausschüttelung nach Neuberg und Saneyoshi.
2. Die Zuckersäurereaktion. Bildung des sauren zuckersauren Kaliums und zuckersauren Silbers.
3. Die Pentosenspektralreaktionen.
4. Reduktion der Fehlingschen Lösung, und zwar fast augenblicklich in der Kälte (Unterschied von d-Fructose, die erst in $^1/_2$ bis 1 Stunde zu reduzieren beginnt).
5. Rechtsdrehung der Säure.
6. Abtrennung des krystallinischen Lactons. Schmelzpunkt nach Umkrystallisierung aus Äthylacetat 175°. $\alpha_D = + 19,1^0$ (Fischer und Piloty, Ber. **24**, 521, 1891; Thierfelder $+ 19,25^0$ (Zeitschr. f. physiol. Chemie **11**, 398). Elementaranalyse der Krystalle.
7. Das p-bromphenylosazonglucuronsaure Baryum nach Goldschmiedt und Zerner[1]) in folgender Weise:

„Die Säure wird mit Barytwasser neutralisiert (im Falle auch Schwefelsäure als Hydrolysierungsflüssigkeit vorliegt, nachherige Filtrierung) auf Lackmus, der Lösung 4 Teile reines salzsaures p-Bromphenylhydrazin sowie 6 Teile Baryumacetat zugegeben und nach kurzem Erwärmen im Wasserbade (2 Minuten) filtriert. Das mit wenig Essigsäure (3 ccm Eisessig) gemischte Filtrat wird während $^1/_2$ Stunde im Wasserbade erhitzt. Die ausgeschiedenen Krystalle werden auf einem Saugtrichter gesammelt, mit Wasser, siedendem absol. Alkohol und Äther gewaschen und aus heißem 60%igen Alkohol umkrystallisiert. Schmelzpunkt bei schneller Erhitzung 216°.

Es sei hierbei bemerkt, daß von den Monosacchariden, die in Inversionsflüssigkeiten neben d-Glucuronsäure vorliegen können, die Rhamnose, d-Glucose und d-Fructose gleichfalls mit salzsaurem p-Bromphenylhydrazin als Osazon niedergeschlagen werden, die ebenfalls schwer in starkem Alkohol löslich sind; Xylose, Arabinose und Fructose stören nicht, weil ihre p-Bromphenylosazone leicht in Alkohol löslich sind. d-Mannose und d-Galactose stören durch Hydrazonbildung.

Das genannte Osazon der Rhamnose schmilzt bei 218°,

---

[1]) Monatsh. f. Chem. **33**, 1217 bis 1231, 1912.

manchmal 216°, das der Fructose und der d-Glucose gleichfalls bei 215 bis 216°, ersteres manchmal bei 214°.

Es ist daher wünschenswert, die d-Glucuronsäure von den Monosacchariden zu trennen, und zwar dadurch, daß die d-Glucuronsäure mit basischem Bleiacetat (Bleiessig) niedergeschlagen und dann der Niederschlag mit Wasser ausgewaschen wird (siehe später). Aus dem Niederschlag ist mit Schwefelwasserstoff oder mit verdünnter Schwefelsäure (Kongorotpapier!) die d-Glucuronsäure wieder in Freiheit zu setzen.

8. Die Säure wird nicht von normalem, sondern von basischem Bleiacetat gefällt.
9. Das Cinchoninsalz der d-Glucuronsäure nach Neuberg[1]); es hat einen Schmelzpunkt von 204° und $\alpha_D = + 138{,}6$ (c = 2,02).

Prüfung der Naphthoresorcinreaktion.

a) Mit Ätherausschüttelung.

50 mg jeden Monosaccharids und 50 mg d-Glucuronsäure[2]) wurden einzeln wie oben behandelt.

Bei l-Arabinose, Xylose und Rhamnose war die saure Flüssigkeit dunkelpurpurblau, bei d-Glucose, d-Mannose und d-Galactose grünblau, bei d-Fructose braun.

Der Äther war bei l-Arabinose und Xylose lichtviolettblau, und in 4 cm-Schicht war ein die D-Linie bedeckender Streifen wahrzunehmen.

Bei Rhamnose rotviolett, und in 2 cm-Schicht war, außer anderen Streifen, kein Streifen auf D wahrzunehmen; in 4 cm-Schicht ein Streifen auf D.

Bei d-Glucose und d-Mannose grünblau; in 4 cm-Schicht, außer anderen Streifen, ein Streifen auf D (bei d-Mannose undeutlich).

Bei d-Galactose lichtgrün, kein Streifen auf D in 4 cm-Schicht.

Bei d-Glucuron sehr schön violett und ein Streifen auf D.

b) Mit Chloroformausschüttelung.

Wie bei a).

---

[1]) Neuberg, Ber. 33, 3322, 1900.

[2]) Das für diese Untersuchung nötige Glucuron verdanke ich Freiherrn Alberda van Ekenstein in Amsterdam.

c) Mit Benzolausschüttelung bei 50°.

Bei Arabinose blau. Benzol farblos. Kein Streifen.
Bei Xylose lichtblau. Benzol farblos. Kein Streifen.
Bei Rhamnose violett. Benzol farblos. Kein Streifen.
Bei d-Glucose blau. Benzol farblos. Kein Streifen.
Bei d-Fructose rotbraun. Benzol braungelb. Kein Streifen.
Bei d-Mannose blau. Benzol farblos. Kein Streifen.
Bei d-Galactose blau. Benzol farblos. Kein Streifen.
Bei d-Glucuron. Benzol rotviolett und ein Streifen auf D.

Schlußbetrachtung.

Wenn d-Glucuronsäure vorliegt, gibt die Äther- und die Chloroformausschüttelung gute Resultate. Wenn Monosaccharide vorhanden sind, können diese d-Glucuron vortäuschen. Nur die Benzolausschüttelung nach N. u. S. gibt für das d-Glucuron charakteristische Ergebnisse, auch wenn Monosaccharide vorliegen, d. h. letztere färben das Benzol nicht und erzeugen daher keinen Streifen.

Wenn wir nun die d-Glucuronsäuregruppe, zu der die der d-Glucuronsäure ähnlichen Säuren zu rechnen sind, zusammenfassen, können wir uns die Frage vorlegen, wie diese Substanzgruppe in pflanzlichen oder tierischen Objekten mittels einer „Vorprobe“ nachgewiesen werden kann. Erst wenn das ermittelt ist, kann zum Nachweis einzelner Körper geschritten werden.

Besonders bei Glucosidforschungen ist es von größter Wichtigkeit, weil wir im positiven Falle imstande sind, fortdauernd während unserer Untersuchung dieser Gruppe Rechnung zu tragen. Es kann dadurch vielen Enttäuschungen vorgebeugt werden.

Zu diesem Zwecke können wir vorteilhaft die Naphthoresorcinreaktion mit Benzolausschüttelung benutzen, in Verbindung mit der Tatsache, daß die d-Glucuron- und ebenso die d-Galacturonsäure nicht von normalem Bleiacetat, sondern von basischem Bleiacetate gefällt werden, wie das P. Mayer und C. Neuberg[1]) schon vorgeschlagen haben. Wir haben dabei erstens den Vorteil, daß mittels normalen Bleiacetats die Flüssigkeit einer Reinigung unterworfen wird,

[1]) P. Mayer und C. Neuberg, Über den Nachweis gepaarter Glucuronsäure und ihr Vorkommen im normalen Harn. Zeitschr. f. Physiol. 29, 256 bis 273, 1900.

zweitens, daß mit dem ausgewaschenen basischen Bleiacetatniederschlage — indem die „störenden", in Lösung gebliebenen Monosaccharide entfernt werden — die Reaktion ausgeführt werden kann.

Jolles[1]) hat darauf hingewiesen, daß von den Monosacchariden besonders die d-Glucose den Nachweis der d-Glucuronsäure mittels der Naphthoresorcinreaktion stört. Das wird erklärt durch den Befund von C. Neuberg[2]), daß alle Carbonylverbindungen, und besonders die Kohlenhydrate, das Naphthoresorcin wegfangen und daß dieser störende Umstand durch Anwenden eines Überschusses von Naphthoresorcin beseitigt werden kann.

Daß der „basische Bleiacetatniederschlag" große Vorteile bietet, wurde mir klar bei einigen Saponinen und anderen Substanzen, in denen es mir nach Hydrolyse nicht gelang, mit der Naphthoresorcinreaktion ohne Bleiessigfällung die Glucuronsäuregruppe nachzuweisen (wahrscheinlich infolge Gegenwart von Monosacchariden), jedoch gut im ausgewaschenen Bleiessigniederschlage.

Zwecks der Auffindung der d-Glucuronsäuregruppe als „Vorprobe" wurden 24 pflanzliche Objekte in folgender Weise untersucht:

1 Gramm Substanz wird mit 10 ccm 5%iger Schwefelsäure (wenn nötig, unter Hinzufügung von Alkohol, oder mit 2%iger Schwefelsäure im Autoclav bei 130°, weil manche Glucuronsäure usw. abspaltenden Substanzen sich schwer spalten) hydrolysiert. Die trübe Flüssigkeit wird mit Barytwasser auf Kongorot (nach der Tüpfelmethode) neutralisiert, filtriert, der Niederschlag ausgewaschen und das Filtrat auf einige Kubikzentimeter auf dem Wasserbade eingeengt. Nach Abkühlung wird ein geringes Übermaß normalen Bleiacetats zugegeben, filtriert und das Filtrat mit basischem Bleiacetat versetzt. Nach 24 Stunden wird auf einem Saugfilter gesammelt und der Niederschlag mit Wasser gewaschen. Dieser Niederschlag wird in 10 ccm 19%iger Salzsäure gelöst, mit mindestens 100 mg

---

[1]) A. Jolles, Über den Nachweis der gepaarten Glucuronsäure im Harn. Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. 19, 477 bis 484, 1909.

[2]) Neuberg, diese Zeitschr. 24, 439, 1909; Neuberg, Der Harn. Handb. S. 435.

Naphthoresorcin während 1 Minute in gelindem Sieden gehalten, einige Minuten gewartet und die Flüssigkeit bei $\pm 50^0$ mit 5 bis 10 ccm Benzol gut ausgeschüttelt. Das abgetrennte, nötigenfalls mittels wasserfreien Natriumsulfats geklärte Benzol ist im positiven Falle violett gefärbt und erzeugt alsdann einen dunklen Streifen auf D im Spektralapparate.

Die folgende tabellarische Übersicht möge die Untersuchungsresultate wiedergeben. Es kommen darin Glucoside vor, von denen bekannt ist, daß sie keine Glucuronsäuregruppe abspalten. Sie dienen daher als Demonstration für negativen Ausfall der Reaktion. Es folgen Substanzen, in denen die Glucuronsäuregruppe schon nachgewiesen oder wahrscheinlich gemacht war, sowie Verbindungen, deren diesbezügliches Verhalten unbekannt war.

Tabellarische Übersicht.

Objekt	Niederschlag mit bas. Bleiacetat	Benzol	Spektroskopie
Arab. Gummi	+	violett	Band auf D
Kastaniensaponine	wenig +	schwach violett	kein Band
Kirschgummi	idem	violett	Band auf D
Aprikosengummi	+	idem	idem
Pflaumengummi	+	idem	idem
Medicago-Saponin, in absol. CH_3OH löslich. Noch nicht veröffentlichte Untersuchung	+	schwach violett	kein Band auf D
Idem, unlöslich in absol. CH_3OH	+	violett	Band auf D
Traganth	+	idem	schw. Band auf D
Aralia - Saponine. Noch nicht veröffentlichte Untersuchung	+	idem	Band auf D
Saponaria-Saponin (Merck)	wenig +	schwach violett	kein Band auf D
Phloridzin (Merck)	+	farblos	idem
Convallamarin (Merck)	—	—	—
Convallarin (Merck)	—	—	—
Cyclamin (Merck)	—	—	—
Hederin aus H. helix	+	farblos	kein Band auf D
Fucus vesiculosus	+	violett	Band auf D
Agar-agar	wenig +	farblos	kein Band auf D
Isländisches Moos	+	schwach violett	schw. Band auf D
Carragheen	+	violett	Band auf D
Gelatine	wenig +	farblos	kein Band auf D
Sarsaparilla-Saponin	+	idem	idem
Senega-Saponin	+	idem	idem
Onsonin (Merck)	+	schwach violett	idem
Digitonin (Merck)	+	farblos	idem

Über den Einfluß der Temperatur auf die Capillaraktivität der Narkotica.

Von

B. v. Issekutz.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. ung. Universität Kolozsvár.)

(Eingegangen am 8. März 1918.)

Als Traube[1]) in einer Reihe von Abhandlungen zeigte, daß die narkotische Wirksamkeit nicht nur mit der Lipoidlöslichkeit, sondern ebensogut mit der Capillaraktivität der Verbindungen parallel geht, begann die Lipoidtheorie der Narkose in ihren Hauptstützen zu schwanken. Weitere Zweifel an der Richtigkeit dieser Theorie verursachten einerseits jene Versuchsergebnisse von Warburg und Wiesel[2]), daß eine Narkose auch an den lipoidfreien Zellen der Acetondauerhefe hervorrufbar ist und daß die Narkotica auch bei diesem Versuchsobjekt eben dieselbe Wirkungsreihe bilden, wie bei den lipoidreichen Gehirnzellen, anderseits die Erkenntnisse der Bedeutung von Adsorptions- und Ausflockungsvorgängen bei der Narkose, welche Vorgänge man wohl mit der Capillaraktivität, nicht aber mit der Lipoidlöslichkeit der Narkotica verknüpfen kann. Doch besteht eine gute Stütze der Lipoidtheorie in den Versuchen von H. H. Meyer[3]), in denen die Wirkungsstärke solcher Substanzen bei verschiedener Temperatur verglichen wurde, deren Teilungskoeffizient zwischen Öl und Wasser sich mit der Temperatur bedeutend ändert. Beim Salicylamid, Benzamid und Monacetin nimmt der Teilungskoeffizient mit der Erwärmung

---

[1]) J. Traube, Arch. f. d. ges. Physiol. **105**, 541; **123**, **132**, **140**, **153**, 276, 1913. — Diese Zeitschr. **42**, **54**, 317, 1913.

[2]) O. Warburg und Wiesel, Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 465, 1912.

[3]) H. H. Meyer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. **46**, 338, 1901.

von 3^0 auf 30^0 zu, ganz entsprechend steigt auch die narkotische Wirksamkeit dieser Verbindungen. Hingegen beim Äthylalkohol, Chloralhydrat und Aceton nimmt der Teilungskoeffizient und die narkotische Kraft mit der Erwärmung ab. Gegen den schlagenden Beweis dieser Versuche kann man nur die Möglichkeit anführen, daß auch die Capillaraktivität jener Verbindungen sich mit der Temperatur in demselbem Sinne ändern kann, wie ihre narkotische Wirksamkeit und Lipoidlöslichkeit. Darum wäre es möglich, mit der Untersuchung des Einflusses der Temperatur auf die Capillaraktivität dieser Verbindungen den Streit zwischen der Lipoid- und Capillaraktivitätstheorie in dem Falle zur Entscheidung zu bringen, wenn die Erwärmung die Capillaraktivität nicht in derselben Richtung ändert, wie die Wirksamkeit und Lipoidlöslichkeit. Dann kann man nämlich die Richtigkeit der Capillaraktivitätstheorie wohl bezweifeln. Im anderen Falle ist die Entscheidung auch mit diesen Versuchen unmöglich; doch dadurch, daß die Bedeutung dieser Hauptstütze der Lipoidtheorie herabgesetzt wird, tritt die Wahrscheinlichkeit der Capillaraktivitätstheorie noch besser hervor.

Zur Bestimmung der Oberflächenspannung benützte ich ein gerades Stalagmometer, das ein weites Glasrohr nach Art eines Liebig-Kühlers umschloß; in diesem zirkulierte zur Temperaturregulierung nötiges Wasser. Da die wäßrigen Lösungen aus dem geraden Stalagmometer, das eigentlich zu viscosen Lösungen bestimmt ist, sehr schnell abtropften, band ich das obere Ende des Stalagmometers mit einem so langen Capillarrohre zusammen, daß nur 15 bis 20 Tropfen in einer Minute abfielen. Zur Temperaturbestimmung stellte ich ein kleinkugeliges Anschützsches Thermometer unter dem Stalagmometer in einer Entfernung von 3 bis 4 cm schief auf. Die auf die Thermometerkugel fallenden Tropfen erwärmten diese, die Quecksilbersäule stieg allmählich auf und zeigte schon nach dem 8. bis 10. Tropfen die wirkliche Temperatur der Lösung. Die kleinen Schwankungen, die durch die Abkühlung der Thermometer zwischen 2 Tropfen verursacht sind, störten die Temperaturbestimmung nicht, weil das Quecksilber im Moment des Abfalles der Tropfen immer dieselbe Temperatur zeigte. Bei niedriger Temperatur wurde die Oberflächenspannung mit einem in Eiswasser abgekühlten Stalagmometer in einem kühlen Orte bestimmt. Die durch wenigstens 3 malige Zählung ermittelten Tropfzahlen der Narkoticalösungen verglich ich mit der Tropfzahl des Wassers, die ich immer gleichzeitig bei derselben Temperatur bestimmte, und ich bezog diese Werte auf ein normales Stalagmometer, das bei derselben Temperatur 100 Wassertropfen gibt.

Die Tropfzahl des Wassers aus meinem Stalagmometer war:

bei 6°	. . 34,6	bei 33°	. . 36,9
„ 8°—9°	. . 34,7—34,9	„ 36°	. . 37,1
„ 18°	. . 35,5	„ 37,5°	. . 37,4
„ 19°	. . 35,6—35,65	„ 39,5°	. . 37,7
„ 20°	. . 35,7	„ 40,0°	. . 37,8—37,9
„ 21°	. . 35,7—35,8	„ 41,0°	. . 37,9—38,0
		„ 42,0°	. . 38,1—38,3

Die Schwankungen der bei derselben Temperatur in verschiedenen Zeiten bestimmten Tropfzahlen waren nur sehr gering, sie machten bei Zimmertemperaturen höchstens $^1/_{10}$ Tropfen, bei höheren Temperaturen höchstens $^2/_{10}$ Tropfen aus.

Bei der Bestimmung der Oberflächenspannungen der Narkoticalösungen entstand ein Versuchsfehler bei höheren Temperaturen durch die Verdampfung der Substanzen von den Oberflächen der Tropfen. Darum war eine Korrektur nötig: Die bei 35 bis 40° abgetropfte Lösung fing ich abgesondert auf, und ich verglich bei Zimmertemperatur die Tropfzahl dieser mit der Tropfzahl einer bei 35 bis 40° nicht benützten Lösung von derselben Konzentration. Aus diesen Daten rechnete ich dann die korrigierte Tropfzahl (x) der Lösung bei 35 bis 40° aus: $x = \frac{a \cdot c}{b}$, wo bedeutet: a die normale Tropfzahl der Lösung bei Zimmertemperatur, b dieselbe der schon einmal bei 35 bis 40° abgetropften Lösung und c die Tropfenzahl bei 35 bis 40°, z. B.:

Die Tropfzahl einer Amylalkohollösung von 0,2% war bei 41° 44,69; die des Wassers 38,0. Die normale Tropfzahl also $117{,}6 = c$.

Die Tropfzahl der schon einmal bei 41° abgetropften Lösung war bei 19° 42,62, die des Wassers 35,6; die normale Tropfzahl $120{,}0 = b$. Die Tropfzahl der nicht benützten Lösung war bei 19° 43,83; die normale Tropfzahl $123{,}1 = a$. Die korrigierte Tropfzahl ist also bei 41° $x = \frac{117{,}6 \cdot 123{,}1}{120} = 120{,}55$. Die 0,4%ige Amylalkohollösung, die schon bei 40° abgetropft ist, gab bei Zimmertemperatur eine Tropfzahl von nur 135,3 statt 138,8. Durch Interpolation kann man leicht berechnen, daß eine 0,356%ige Amylalkohollösung eine Tropfzahl von 135,3 hat, so daß ca. 11% vom Amylalkohol während des Abtropfens und Auffangens verdunstet ist.

Die hier angeführte Korrektur ist gewiß nicht genau, weil die Konzentrationsverminderung an Oberflächen der Tropfen und dadurch die Zunahme der Oberflächenspannung wahrscheinlich viel größer ist als in der ganzen Lösung. Dieser Fehler war aber dadurch kompensiert, daß die Lösung nicht nur während des Abtropfens, sondern auch während der ganzen Zeit des Auffangens aus dem offenem Gefäß frei verdunsten konnte.

Allerdings wurden die Richtungen des Temperatureinflusses auf die Capillaraktivität durch diese Korrekturen nicht geändert, sondern nur die Unterschiede zwischen den bei verschiedenen Temperaturen bestimmten Oberflächenspannungen vergrößert.

Tabelle I.

Narkotica	Konzentration	Die Tropfzahlen bei 6—8° Normal	Die Tropfzahlen bei 6—8° Nach dem Abtropfen bei 35°	Die Tropfzahlen bei 33—36° Beobachtet	Die Tropfzahlen bei 33—36° Korrigiert	Der Einfluß der Temperaturerhöhung auf die Wirksamkeit	Der Einfluß der Temperaturerhöhung auf die Capillaraktivität
Salicylamid . .	1:1300	101.1		100,27[1])		Abnahme	Abnahme
	1:600	101,9		100,6[1])			
	n/60	101,86	101,85	**101,0**			
	n/30	**100,6**		100,5			
Benzamid . . .	n/50	**101,32**		100,94		„	„
	n/20	104,88	104,9	**103,45**			
Monacetin . . .	n/70	101,7		101,0		„	„
	n/18	**106,0**		103,8			
	n/15	106,9	106,85	**105,56**			
Äthylalkohol .	n/7	104,7	104,52	105,1	**105,28**	Zunahme	Zunahme
	n/3	**110,3**	110,1	111,65	111,83		
Chloralhydrat	n/250	101,88	101,6	102,1	**102,04**	„	„
	n/50	**110,66**	110,28	111,1	111,5		
Aceton	n/7	106,3	105,6	106,5	**107,2**	„	„
	n/3	**110,1**	109,06	110,7	111,8		

Bei den ersten drei Verbindungen war keine Korrektur nötig, weil die Konzentrationen dieser Lösungen sich während der Bestimmungen nicht änderten. Die Capillaraktivität dieser Verbindungen ist sehr gering, darum mußte ich 5- bis 10fach stärkere Lösungen anwenden, als die narkotischen Grenzkonzentrationen in den Versuchen von H. H. Meyer waren.

Durch die Erwärmung wurde die Capillaraktivität dieser drei Verbindungen vermindert, und dementsprechend nimmt auch deren narkotische Wirksamkeit und Lipoidlöslichkeit ab. Hingegen nimmt die Capillaraktivität des Äthylalkohols, Chloralhydrats und Acetons mit der Temperatur zu; ebenso auch die Wirksamkeit und Lipoidlöslichkeit.

Die durch Erwärmung verursachten Änderungen dieser drei Eigenschaften gehen also immer parallel; aber der Zusammenhang zwischen diesen ist nicht quantitativ. Die Capillaraktivitäten nehmen nicht in demselben Maße zu bzw. ab, als die Wirksamkeiten, so daß die narkotischen Grenzkonzentrationen einer Verbindung bei verschiedenen Temperaturen nicht isocapillar sind. Das dürfte man aber auch gar nicht erwarten,

[1]) bei 40°.

weil die Oberflächenspannungen nicht zwischen Blut und Zellgrenzflächen, sondern zwischen Wasser und Luft bestimmt sind.

B. Zehl[1]) hat den Einfluß der Temperaturänderung auf die entwicklungshemmende Wirkung vieler Substanzen beim Aspergillus niger und Penicillum glaucum untersucht. Seine Versuchsergebnisse benützte ich zur weiteren Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Capillaraktivität und Wirksamkeit. Diese Bestimmungen sind in der Tabelle II zusammengestellt. Die Konzentrationen entsprechen den von B. Zehl bestimmten Grenzkonzentrationen bei den Temperaturen, wo die Tropfzahlen fettgedruckt sind.

Tabelle II.

Verbindung	Konzentration in Gew.-%	Die Tropfzahlen bei 20—22°		Die Tropfzahlen bei 39—41°		Der Einfluß der Erwärmung	
		Normal	Nach dem Abtropfen bei 40°	Beobachtet	Korrigiert	auf die Wirksamkeit	auf die Capillaraktivität
Äthylalkohol .	3,0	119,7	118,0	120,8	**122,52**	Zunahme	Zunahme
	5,5	**131,0**	129,1	132,0	133,96		
Amylalkohol .	0,2	123,2	120,0	117,6	**120,55**	"	Abnahme
	0,4	**138,8**	135,3	133,7	137,2		
Amylenhydrat	0,5	124,7	123,2	125,2	**126,7**	"	Zunahme
	1,5	**148,5**	146,6	150,3	152,2		
Aceton	1,5	112,25	109,2	110,0	**113,05**	"	"
	3,5	**121,7**	118,5	120,4	123,4		
Paraldehyd . .	0,4	106,6	104,3	106,5	**108,8**	"	"
	1,25	**115,7**	113,1	114,8	117,4		
Äthylurethan .	1,6	**110,4**		109,0		Abnahme	Abnahme
	2,0	112,7	112,7	**110,6**			
Acetanilid . . .	0,3	103,4	103,3	**101,9**		Zunahme	"
	0,48	**116,1**	106,1	103,9			
Antipyrin . . .	3,0	113,0		**112,8**		"	"
	10,0	**119,6**		119,4			
Phenol	0,034	100,4		**100,1**		"	"
	0,125	**103,0**		101,0			
	0,46	109,2	109,1	106,3	106,4		
Resorcin . . .	1,2	103,0		**102,1**		"	"
	4,0	**107,7**		105,7			
Vanillin	0,1	101,0		**100,26**		"	"
	0,2	**102,0**	101,9	**100,9**	101,0		

Beim Äthylalkohol, Amylenhydrat, Aceton, Paraldehyd nimmt sowohl die Wirksamkeit wie die Capillaraktivität zu. beim Äthylurethan nehmen die beiden ab. Also auch bei

[1]) B. Zehl, Zeitschr. f. allg. Physiol. 8, 140, 1908.

diesen indifferenten Narkotica wirkt die Erwärmung auf die Wirksamkeit und Capillaraktivität in gleicher Richtung. Hingegen gehen die Änderungen der beiden Eigenschaften beim Amylalkohol, Acetanilid, Antipyrin, Phenol, Resorcin und Vanillin nicht parallel: die Wirksamkeit ist durch die Erwärmung bedeutend ($1^1/_2$- bis 5fach) verstärkt, die Capillaraktivität aber vermindert.

Diese Verbindungen — mit Ausnahme des Amylalkohols — gehören aber nicht zu den echten indifferenten Narkotica: diese haben spezifische Giftwirkungen neben der allgemeinen narkotischen Wirkung; diese wirken wahrscheinlich nicht nur durch ihre physikochemischen Eigenschaften (Lipoidlöslichkeit oder Capillaraktivität), sondern treten mit den Zellbestandteilen in chemische Reaktion. Da nun die Geschwindigkeit der meisten chemischen Reaktionen durch eine 10gradige Temperaturerhöhung ungefähr verdoppelt bis verdreifacht wird (van't Hoffsche RGT-Regel), ist es darum gut begreiflich, daß die Wirksamkeit dieser Gifte durch die Erwärmung gesteigert wird, obwohl ihre Capillaraktivität abnimmt. Eben jener Umstand, daß die Wirksamkeit und Capillaraktivität sich nur bei den indifferenten Narkotica parallel ändern, nicht aber bei anderen Giften, spricht am besten für die Abhängigkeit der narkotischen Wirkung von der Capillaraktivität.

Zusammenfassung.

1. Die Capillaraktivität der indifferenten Narkotica wird durch die Temperaturerhöhung stets in demselben Sinne geändert wie ihre Wirksamkeit.

2. Die Zu- bzw. Abnahme der narkotischen Kraft jener sechs Verbindungen, die H. H. Meyer untersucht hat, kann man nicht nur auf die Verschiebung ihrer Teilungskoeffizienten durch die Erwärmung, sondern auch auf die Zu- bzw. Abnahme ihrer Capillaraktivität zurückführen.

3. Bei anderen Giften wird die Capillaraktivität durch Temperaturerhöhung häufig vermindert und doch die Wirksamkeit verstärkt.

Narkose und Sauerstoffkonzentration.

Von

B. von Issekutz.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Königl. Ungar. Universität zu Kolozsvár.)

(Eingegangen am 8. März 1918.)

Den Zusammenhang zwischen der Narkose und der Sauerstoffatmung studierten zuerst Verworn[1]) und seine Schüler, und sie stellten die Erstickungstheorie der Narkose auf Grund der Versuche auf, durch die sie zu beweisen suchten, daß die Zellen während der Narkose nicht fähig sind, O_2 aufzunehmen, daß die Erstickung der Organe während der Narkose nicht nur nicht aufhörte, sondern daß die lange Narkose selbst fähig ist, Erstickungszustände hervorzurufen.

Winterstein[2]) war es, der neuerdings bewies, daß diese Folgerungen unrichtig waren, daß die Narkotica, namentlich der Alkohol, die O_2-Aufnahme des asphyktischen Rückenmarkes nicht beeinträchtigen und daß die Narkose und Erstickung auf verschiedenen Prozessen beruhen, da es möglich ist, anaerob lebende Tiere, wie Ascariden, zu narkotisieren; da im Laufe der Erstickung die chemische Reaktion des Rückenmarkes eine sauere ist, unter der Narkose hingegen nicht; und schließlich, weil im Alkoholrausch das überlebende Rückenmark seine Oxydation nicht vermindert.

Schon vor ihm machten mehrere die Erfahrungen, daß die Narkose und Oxydationsverminderung nicht immer parallel verlaufen. So lähmt das Chloroform nach Loeb und Wasteneys[3])

---

[1]) Verworn, Narkose. Jena 1912.

[2]) H. Winterstein, diese Zeitschr. **51**, 143, 1913; **61**, 81, 1914; **70**, 81, 1915.

[3]) J. Loeb und Wasteneys, Journ. of Biolog. Chem. **14**, 517, 1913.

die Fundulusembryonen ohne Verminderung der Oxydation, hinwieder vermindert das Cyankalium die Oxydation ohne zu lähmen. Ähnlicherweise kann man die Furchung der Seeigeleier ohne Verminderung der O_2-Atmung einstellen, z. B. nach Warburg[1]) durch Phenylurethan.

Weizsäcker[2]) beobachtete an überlebenden Froschherzen, daß das CNK die O_2-Aufnahme sehr beeinträchtigt, ohne die Herztätigkeit zu hemmen.

Nach Unger[3]) lähmt die hypotonische NaCl-Lösung das Froschrückenmark, ohne die Oxydation zu vermindern, hinwieder reduziert das $CaCl_2$ die Oxydation, ohne die Reizbarkeit aufzuheben.

Ganz unabhängig von Verworn errichtete einige Jahre später auch Mansfeld[4]) eine Erstickungstherorie der Narkose. Er untersuchte in erster Reihe seiner Versuche die Wirkung des Paraldehyds auf Kaulquappen. Bei bekannter Temperatur und Barometerstand verdünnte er mit aufgekochtem Wasser im geschlossenen Gefäß ein mit O_2 gesättigtes Wasser und rechnete die O_2-Konzentration des so erhaltenen Wassers vom Absorptionskoeffizient des O_2 und dem Grade der Verdünnung aus, aber er bestimmte die Konzentration nicht direkt.

Er fand, daß die Kaulquappen im Wasser von 0,000398 Gew.-$^0/_0$- O_2-Konzentration über 3 Stunden, bei 0,00042$^0/_0$iger O_2-Konzentration wenigstens über 5 Stunden hindurch normal bleiben. Nachher löste er Paraldehyd in 0,1 bis 0,18$^0/_0$iger Konzentration mit teilweise sauerstoffreichem (0,0045$^0/_0$) und teilweise mit sauerstoffarmem Wasser (0,00039 bis 0,00043$^0/_0$) und findet, daß, während die Kaulquappen in der ersteren normal verblieben, sie in der letzteren in tiefe Narkose verfielen, aus der sie durch O_2-Durchströmung zu erwecken sind.

In der zweiten Arbeit beweist er, daß die Narkosen den Ruhestrom der Froschhaut ebenso ändern wie der O_2-Mangel. Endlich findet er in seiner dritten Arbeit bei dem Keimen der Samen eine Ähnlichkeit zwischen dem O_2-Mangel und der Ätherwirkung.

---

1) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **66**, 308, 1910.

2) V. v. Weizsäcker, Arch. f. d. ges. Physiol. **147**, 145, 1912.

3) Unger, diese Zeitschr. **61**, 103, 1914.

4) G. Mansfeld, Arch. f. d. ges. Physiol. **129**, 69, 1909; **131**, 457, 1910; **143**, 175, 1917.

Mansfeld stellt nun infolge dieser Forschungen die Hypothese auf, daß das O_2 in die Zellen, mit Vermittlung der Lipoide, durch seine Lösung in denselben eindringt. Wenn in den Lipoiden ein Narkoticum aufgelöst ist, dann vermindert es die O_2-Absorptionsfähigkeit der Lipoide; das O_2 kann in die Zellen nicht eindringen, es entsteht eine Erstickung, und das ist nach seiner Meinung die Narkose.

Nach den Messungen von Elisabeth Hamburger[1]) vermindern zwar die Narkotica die O_2-Absorptionsfähigkeit des Öles, aber Winterstein[2]) bewies, daß diese Messungen irrtümlich sind, da die Narkotica die O_2-Absorptionsfähigkeit der Öle nicht im geringsten beeinträchtigen. Dadurch verlor die Theorie Mansfelds, die die Lipoid- und Erstickungstheorie so schön zu verbinden schien, ihre Berechtigung.

Unter meinen anderen Versuchen zeigte sich die Notwendigkeit, zu untersuchen, ob die Schwächung oder das Aufhören der Herztätigkeit die Wirkung der Narkotica beeinflußt. Die Hemmung der Blutzirkulation ruft den O_2-Mangel und Erstickung des Nervensystems hervor, und so war nach Mansfelds Versuchen zu erwarten, daß die Unterbindung des Herzens die Wirkung des schon früher resorbierten Narkoticums erhöhen wird. Dies traf jedoch nicht ein.

Bei Fröschen bringen 2 mg Urethan pro 1 g in 20 bis 30 Minuten eine oberflächliche Narkose hervor; wenn ich das Herz jetzt unterbinde, vertieft sich die Narkose nicht, die vollständige Lähmung des Tieres stellt sich nicht früher ein wie bei solchen Fröschen, deren Herz ohne Narkose unterbunden war. Natürlicherweise kann der Erfolg dieser Versuche noch nicht entscheidend sein, da doch die Einstellung der Blutzirkulation nicht nur O_2-Mangel verursacht, sondern auch das Aufhäufen anderer Stoffwechselprodukte.

Dies gab immerhin Anlaß zur Untersuchung des Synergismus von O_2-Mangel und der Narkotica durch geeignetere Versuchseinrichtungen. Ich hielt dies um so wichtiger, da Mansfeld nur mit einem Narkoticum, d. h. mit Paraldehyd, experimentiert hat.

---

[1]) E. Hamburger, Arch. f. d. ges. Physiol **143**, 187, 1911.

[2]) Winterstein, diese Zeitschr. **51**, 160, 1913.

Ich probierte zuerst, die vergleichenden Versuche an in H_2-Atmosphäre gehaltenen Fröschen, dann an mit CO vergifteten zu vollführen; doch, da ich nicht genug verläßliche übereinstimmende Ergebnisse erzielte, kam ich auf die von Mansfeld benutzte Methode zurück, mit dem Unterschiede, daß ich anstatt der einfachen Ausrechnung der O_2-Konzentration des Wassers in jedem Falle diese mit der Winklerschen Methode mit $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$-Lösung titrimetrisch bestimmte.

In Tabelle I sind 25 parallele Versuche beschrieben, die ich mit Paraldehyd, Alkohol, Äther, Amylenhydrat und Urethan durchführte, ohne daß ich auch nur in einem Falle einen wesentlichen Unterschied der Narkosen in O_2-reichem und O_2-armem Wasser bemerkt hätte.

Höchstens daß die Kaulquappen in O_2-reichem Wasser etwas oberflächlicher schliefen wie in O_2-armem Wasser, jedoch geschah es in keinem Falle, daß diese im ersteren Wasser wach waren, während jene im letzteren schliefen.

Gewöhnlich waren die Unterschiede in der Tiefe der Narkosen nicht größer, als die wir bei gleicher O_2- und Narkotica-Konzentration eingeschläferten Tieren häufig finden.

Die manchmal beobachteten kleinen Unterschiede sind sehr leicht so zu deuten, daß der große O_2-Mangel schon selbst die Lebenstätigkeiten vermindert und so die Wirkung der Narkotica in kleinem Maßstab befördert, hingegen wird die Narkose durch übernormalen O_2-Reichtum, durch Reizung und Beschleunigung der Lebenstätigkeit in gewissem Maße gehemmt. Die Kleinheit der Wirkungsunterschiede schließt jedoch jeden engeren Zusammenhang zwischen dem O_2-Mangel und der narkotischen Wirkung aus.

Die Versuche habe ich an entwickelten 30 bis 45 mm langen Kaulquappen vollführt, bei denen schon die äußeren Kiemen verschwunden waren, deren Schwanz aber noch in voller Länge bestand; bei manchen waren schon die vorderen Füße da. Ich gab darauf acht, daß die Kaulquappen, mit denen ich die parallelen Versuche vollführte, gleichen Alters und Größe seien. Ich bestimmte pünktlich den Rauminhalt einiger 250 bis 260 ccm großen, mit gutschließenden Glasstöpseln versehenen Flaschen, und zwar zuerst offen, mit Wasser ganz angefüllt, und berechnete demnach die Dosis der Narkotica, und dann, als sie ohne Luftblasen zugestöpselt waren.

In die Flaschen tat ich je 3 Kaulquappen hinein, nachdem ich

Tabelle I.

Vers.-Nr.	Narkoticum	O_2-Inhalt in $^n/_{100}$ $Na_2S_2O_3$	O_2-armes Wasser Narkose	O_2-Inhalt in $^n/_{100}$ $Na_2S_2O_3$	O_2-reiches Wasser Narkose
1.	Paraldehyd 0,13 %	4,4 ccm 0,000138 Gew.-% O_2	Oberflächliche Narkose; das eine Tierchen bewegt sich nicht auf den Netzen, reagiert aber auf Reiz; das andere bewegt sich langsam am Netz. Das dritte bewegt sich frisch.	68,4 ccm 0,002121 Gew.-% O_2	Zwei bewegen sich heftig am Netz, das dritte ist aber unbeweglich, reagiert nur auf Reiz. Sie sind im allgemeinen lebhafter, aber der Unterschied ist klein.
2.	Paraldehyd 0,15 %	5,6 ccm	Zwei reagieren auf Reiz und schwimmen weiter, aber im Netze bewegen sie sich nicht. Das dritte ist wacher, beim Herausnehmen zappelt es am Netz.	71,2 ccm	Sie reagieren auf Reize, beim Herausnehmen bleiben zwei am Netze unbeweglich, das dritte zappelt. Kein Unterschied.
3.	Paraldehyd 0,175 %	7,0 "	Tiefe Narkose, zwei reagieren nur auf starken Reiz, eins ist ganz gelähmt.	72,2 "	Tiefe Narkose, alle drei reagieren auf starken Reiz, sie bewegen sich sogar beim Herausnehmen. Also etwas oberflächlichere Narkose.
4.	Paraldehyd 0,15 %	6,8 "	Das eine reagiert kaum auf Reizen, das zweite schwimmt von selbst, schläft kaum. Das dritte bewegt sich auf Reizen. Beim Herausnehmen bewegen sich zwei nicht am Netz.	70,2 "	Alle drei schlafen, aber reagieren lebhaft auf Reizen, am Netze zappeln zwei, eins nicht. Die Narkose ist im allgemeinen etwas niedrigeren Grades.
5.	Paraldehyd 0,1 %	4,0 " 0,000122 Gew.-% O_2	Sie sind matt, bewegen sich nicht von selbst, aber reagieren und schwimmen lebhaft auf Berührung. Im Netze zappeln sie frisch.	86,6 " 0,00258 Gew.-% O_2	Sie schlafen nicht, aber schwimmen nicht von selbst, sie schauen ein wenig matt aus. Kein wesentlicher Unterschied.
6.	Paraldehyd 0,15 %	4,0 ccm	Narkose, sie reagieren lebhaft auf Reizen, sie zappeln nicht im Netze.	87,0 ccm	Oberflächliche Narkose, sie reagieren lebhaft auf Reizen, im Netze zappeln sie.
7.	Paraldehyd 0,175 %	3,5 "	Tiefe Narkose, auf Reizen reagieren zwei schwach, eins gar nicht, es ist ganz gelähmt. Draußen am Netze bewegen sich zwei schwach, das dritte ist zugrunde gegangen.	78,6 "	Tiefe Narkose, sie reagieren auf Reizen schwach, herausgenommen bewegen sie sich kaum am Netze.
8.	Paraldehyd 0,13 %	4,8 "	Oberflächliche Narkose, sie bewegen sich auf Berühren lebhaft u. schwimmen sogar von selbst. Im Netze zappeln sie.	60,0 "	Oberflächliche Narkose, auf Berühren reagieren sie lebhaft und schwimmen.

Vers.-Nr.	Narkoticum	O_2-Inhalt in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	O_2-armes Wasser Narkose	O_2-Inhalt in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	O_2-reiches Wasser Narkose
9.	Äthylalkohol 1 : 60	4,0 ccm 0,000127 Gew.-% O_2	Sie sind ganz gelähmt, reagieren auf Reizen nicht, im frischen Wasser erwachen sie nicht.	78,6 ccm 0,002208 Gew.-% O_2	Tiefe Narkose, sie reagieren aber auf Reizen, im frischen Wasser erwachen sie.
10.	Äthylalkohol 1 : 60	5,6 ccm	Sie sind ganz gelähmt, reagieren nicht und wachen im frischen Wasser nicht auf.	71,2 ccm	Tiefe Narkose, sie reagieren aber auf Reizen, im frischen Wasser schwimmen sie nach 15 Minuten ganz lebhaft.
11.	Äthylalkohol 1 : 75	7,0 „	Narkose, sie reagieren lebhaft auf Reizen, schwimmen weiter. Im Netze bewegen sie sich beim Herausnehmen nicht. Im frischen Wasser erwachen sie bald.	72,2 „	Narkose, sie reagieren auf Reizen. Gar kein Unterschied.
12.	Äther. sulf. 0,25 %	6,8 „	Sie sind ganz gelähmt, reagieren nicht. Im frischen Wasser wachen zwei später auf, eins gar nicht.	70,2 „	Sie sind ganz gelähmt, aber erwachen im frischen Wasser bald.
13.	Äther. sulf. 0,15 %	7,0 „	Eins schwimmt frisch, zwei schlafen, aber reagieren lebhaft auf Berührung. Sie erwachen rasch im frischen Wasser.	78,6 „	Alle drei in oberflächlicher Narkose, sie reagieren lebhaft auf Berühren und schwimmen weiter. Sie erwachen bald.
14.	Äther. sulf. 0,15 %	4,8 „	Eins ganz gelähmt, erwacht auch im frischen Wasser nicht. Die zwei anderen oberflächlicher narkotisiert, auf Reizen schwimmen sie weiter. Im Netze zappeln sie nicht.	60,0 „	Alle drei schlafen oberflächlich, reagieren lebhaft auf Berühren, schwimmen weiter. Im Netze zappeln sie lebhaft. Die Wirkung ist oberflächlicher.
15.	Äther. sulf. 0,15 %	5,0 „	Das eine reagiert auf Reizen, das andere schwächer, das dritte reagiert nicht. Im frischen Wasser ist letzteres nicht aufgewacht.	72,0 „	Oberflächliche Narkose, auf Berühren reagieren sie lebhaft.
16.	Äther. sulf. 0,20 %	4,8 „	Zwei sind ganz lahm, eins reagiert auf Reizen schwach. In frischem Wasser erwacht eins rasch, die anderen zwei erst nach $^1/_2$ Stunde.	60,0 „	Das eine ist ganz gelähmt, das zweite reagiert auf Reizen sehr schwach, das dritte lebhaft. Im frischen Wasser erwachen sie bald. Also etwas schwächere Wirkung.
17.	Äther. sulf. 0,20 %	4,6 „	Sie sind ganz gelähmt, reagieren nicht auf Reizen. Im frischen Wasser erwachte nur eins.	68,4 „	Tiefe Narkose, sie reagieren auf Reizen. Im frischen Wasser erwachen sie rasch. Schwächere Wirkung.

Vers.-Nr.	Narkoticum	O_2-Inhalt in $^n/_{100}$-$Na_2S_2H_3$	O_2-armes Wasser Narkose	O_2-Inhalt in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	O_2-reiches Wasser Narkose
18.	Amylenhydr. 1 : 500	5,4 ccm	Eins reagiert auf Reizen schwach, die andern zwei sind ganz gelähmt. Im frischen Wasser erwachen zwei, eins nicht.	72,0 ccm	Eins reagiert auf Reizen schwach, zwei sind ganz gelähmt. Kein Unterschied. Im frischen Wasser sind alle aufgewacht.
19.	Amylenhydr. 1 : 600	5,8 „	Sie reagieren auf Reizen, eins ist ganz gelähmt.	71,4 „	Sie reagieren auf Reizen, eins ist ganz gelähmt. Kein Unterschied.
20.	Amylenhydr. 1 : 800	5,8 „	Sie bewegen sich nicht von selbst, auf Reizen schwimmen sie weiter.	71,4 „	Sie bewegen sich nicht von selbst, auf Reizen schwimmen sie davon. Kein Unterschied.
21.	Amylenhydr. 1 : 600	4,4 „	Zwei reagieren schwach auf Reizen, eins ist ganz gelähmt. Letzteres ist im frischen Wasser nicht aufgewacht.	62,4 „	Sie reagieren auf Reizen ganz gut und erwachen alle im frischen Wasser. Kleiner Unterschied.
22.	Amylenhydr. 1 : 800	4,5 „	Sie schwimmen nicht von selbst, schlafen oberflächlich, reagieren lebhaft auf Reizen.	62,3 „	Sie schwimmen nicht von selbst, schlafen oberflächlich, reagieren lebhaft auf Reizen. Kein Unterschied.
23.	Äthylurethan 1 : 300	5,0 „	Tiefe Narkose, sie reagieren kaum auf Reizen.	70,0 „	Tiefe Narkose, sie reagieren kaum auf Reizen. Kein Unterschied.
24.	Äthylurethan 1 : 400	4,4 „	Sie schwimmen lebhaft, keine Narkose.	66,0 „	Sie sind ein wenig matt.
25.	Äthylurethan 1 : 500	4,6 „	Sie sind fast normal.	78,0 „	Sie sind fast normal. Kein Unterschied.

die nötige Menge des Narkoticums hineingemessen hatte, dann füllte ich sie mit Wasser vollständig an, schloß sie mit den Stöpseln zu, ohne daß Luftblasen darin geblieben sind.

Das O_2-arme Wasser stellte ich so her, daß ich in einem großen Kolben Wasserleitungswasser mehrere Stunden hindurch kochte, in dem ich zugleich H_2-Strom hindurchleitete. Nach dem Kochen habe ich den mit doppeltgebohrtem Stöpsel versehenen Kolben mit der Öffnung nach unten gedreht und mit dem H_2-Behälter verbunden, so daß über dem ausgekochten Wasser fortwährend reines H_2 war. Das von dem Kolben herausgelassene Wasser ergänzte ich mit H_2. So bekam ich ein von O_2 ganz befreites Wasser. In diesem jedoch gehen die Tiere zugrunde, deshalb mischte ich dazu O_2 enthaltendes Wasser, und zwar mischte ich meistens 50 ccm Wasserleitungswasser mit 220 ccm ausgekochtem Wasser. In dem so erhaltenen O_2-armen Wasser blieben 3 Kaulquappen über 2 bis 3 Stunden in normalem Zustand.

Das mit O_2 gesättigte Wasser stellte ich so her, daß ich aus dem

Wasser durch Hitze den größten Teil der Luft vertrieb, dann nach Abkühlung leitete ich O_2 durch und hielt darüber fortwährend O_2.

Zuerst machte das viel Unannehmlichkeiten, daß während der Versuche in den geschlossenen Gläsern sich Luftblasen bildeten; wahrscheinlich erwärmte sich gegen Mittag das Laboratorium und das Wasser in den Flaschen, und so entstanden Luftblasen darinnen. Deshalb stellte ich die Flaschen in kaltes, ca. 15 gradiges Wasser und hemmte so ihr Erwärmen.

Ich stellte immer 3 parallele Versuche an. In dem einen Glase waren die Tiere ohne Narkose in O_2-armem Wasser, in dem zweiten in derselben O_2-armen Lösung und im dritten, in O_2-reichem Wasser, waren die Kaulquappen narkotisiert. Die Versuche gelangen nur dann, wenn die im ersten Glase sich befindenden Tiere vollständig normal blieben. Wegen Raumersparung sind diese Kontrollflaschen nicht in den Tafeln angemerkt. Die O_2-Konzentration habe ich am Ende der Versuche immer gleichzeitig gemessen und die verbrauchte $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$-Lösung angegeben.

In der folgenden Versuchsreihe untersuchte ich einerseits die Verminderung der O_2-Atmung der Kaulquappen durch Narkotica, anderseits ob es möglich sei, die Oxydation der Tierchen durch KCN in ähnlichem Maße zu reduzieren, ohne sie zu lähmen.

Die Versuche vollführte ich an kleinen 15 bis 25 mm langen Kaulquappen in gestandenem Wasserleitungswasser, das im Mittelwert 0,00068 Gew.-$^0/_0$-Inhalt hatte. Zu jedem Versuche gebrauchte ich 3 gleichgroße, mit Glasstöpseln versehene Flaschen.

In die erste nahm ich von dem Wasser Probe zur Messung des O_2-Inhaltes (a), in der zweiten (b) hielt ich 10 Kaulquappen ohne Narkose, in der dritten (c) narkotisierte ich 10 Tierchen. Nach Verlauf von 4 bis 6 Stunden fischte ich die Kaulquappen rasch aus den Flaschen und maß den O_2-Inhalt des Wassers nach Winkler.

Die a — b gaben die O_2-Atmung der normalen Kaulquappen, a — c die der narkotisierten.

Der Unterschied zwischen den beiden zeigte die Oxydationsverminderung, die ich in den Prozenten der normalen Atmung ausdrückte.

Da der Alkohol viel O_2 absorbiert, habe ich den Alkohol mit Wasser verdünnt, unter einem Rückflußkühler längere Zeit gekocht und dann unter H_2 gehalten. Aus dem so gewonnenen O_2-freien Alkohol stellte ich dann die nötige Verdünnung her.

Aus der Tabelle II ist es ersichtlich, daß jedes untersuchte Narkoticum die O_2-Atmung vermindert. Die Verminderung ist regelmäßig 20 bis 40$^0/_0$ und hängt in erster Reihe von der Tiefe der Narkose ab. Einen wesentlichen Unterschied zwischen den Narkotica fand ich nicht, höchstens

Tabelle II.

Versuchs-Nr.	Narkotica und Konzentration	Versuchsdauer in Std. u. Min.	O_2-Atmung der Kaulquappen: Normal: Während d. Versuche in ccm O_2	Normal: Während 1 Stunde in ccm O_2	Während d. Narkose: Während d. Versuche in ccm O_2	Während d. Narkose: Während 1 Stunde in ccm O_2	Verminderung in $^0/_0$	Bemerkungen
1.	Alkohol 1 : 70	4	0,6802	0,17005	0,4079	0,10197	40,4	Tiefe Narkose, im frischen Wasser wachen alle auf.
2.	Alkohol 1 : 70	6 40	0,7577	0,10809	0,5988	0,08787	20,97	Tiefe Narkose.
	Urethan 1:300				0,4330	0,06354	42,85	Tiefe Narkose, nur 2 bleiben am Leben.
3.	Alkohol 1 : 70	7	0,5927*	0,0847	0,4294	0,06134	26,7	Tiefe Narkose, 3 zugrunde gegangen.
	Alkohol 1 : 70		0,5943*	0,0847	0,4350	0,06214		Tiefe Narkose, 4 zugrunde gegangen.
4.	Alkohol 1 : 70	5	0,7445	0,14891	0,5005	0,1001	41,6	Tiefe Narkose, alle sind aufgewacht.
	Alkohol 1 : 70		0,9132	0,1826	0,5289	0,09334		
5.	Alkohol 1 : 70	5	0,6164	0,1233	0,4702	0,0940	23,3	Narkose, sie reagieren auf Reizen.
	Urethan 1:300		0,6092	0,1218	0,4988	0,0997	18,6	
6.	Alkohol 1 : 75	4	0,3867	0,0967	0,2796	0,0699	27,7	Oberflächliche Narkose.
	Alkohol 1 : 50				0,0920	0,0230	76,0	Tiefe Narkose, 8 zugrunde gegangen.
	Urethan 1:300				0,2746	0,0687	30,0	Tiefe Narkose, alle sind aufgewacht.
7.	Amylenhydrat 1:400	5	0,5726	0,1165	0,4514	0,0903	22,5	Tiefe Narkose, 3 zugrunde gegangen.
	„ 1:600				0,4838	0,0967	17,0	Oberflächliche Narkose.
8.	Cumarin 1 : 10000	5 30	0,4892	0,0979	0,4306	0,0860	15,6	Tiefe Narkose, alle am Leben geblieben.
	Chloroform 1 : 6000	5 30	0,5336	0,1067	0,3496	0,0777	24,0	Tiefe Narkose, alle zugrunde gegangen.
9.	KCN 1 : 1000000	5	0,5664	0,1135	0,3934	0,0787	30,5	Normal.
	„ 1 : 750000				0,3404	0,0681	49,2	Sind ein wenig matt.
10.	KCN 1 : 1000000	5	0,5161	0,1032	0,3850	0,0770	25,4	Sind normal.
	„ 1 : 750000				0,3208	0,0641	36,8	Sind normal.

*) Die Tiere sind erstickt, das Wasser enthielt am Ende der Versuche nur 0,00017 Gew.-$^0/_0$ O_2.

daß das Cumarin die Oxydation im Verhältnisse zu der Tiefe der Narkose auffallend schwach verminderte.

Auffallend ist, daß das Äthylalkohol in diesen Versuchen die Oxydation in gleichem Maße verminderte wie das Äthylurethan. 1 : 70-Alkohollösung und 1 : 300-Urethanlösung verursachen eine gleichtiefe Narkose. In diesen Konzentrationen verminderte der Alkohol mit 20,97 bis 41,6 $^0/_0$, im Mittelwert

mit 28,6 % die Oxydation, das Urethan mit 18,6 bis 42,82 %, im Mittelwerte mit 30,5 %.

Nach Winterstein[1]) vermindert die Oxydation des überlebenden Rückenmarkes in narkotischen Konzentrationen nur das Urethan (in 0,5 %iger Lösung), der Alkohol (in 5 bis 7 Vol.-%iger Lösung) hingegen steigert es. Nach Warburg[2]) vermindert die 7,3 Gew.-%ige Äthylalkohollösung die Oxydation der Gänseerythrocyten auf 1/2 bis 1/3 des Normalen, und so wirkt auch das Äthylurethan in 3 Gew.-%iger Lösung.

Mit Berücksichtigung, daß die narkotische Wirkung des Äthylalkohols ca. viermal so schwach ist wie die des Äthylurethans — an Kaulquappen verursacht ersteres in 1:70-, letzteres in 1:300iger Lösung Narkose — scheint es, daß das Äthylurethan auf die Oxydation der Erythrocyten im Vergleich zur narkotischen Kraft schwächer wirkt wie der Alkohol.

Bei meinen Versuchen war es natürlicherweise nicht zu erwarten, daß der Alkohol die Oxydation der Kaulquappen gar nicht vermindere, da die Hemmung der Muskeltätigkeit, die mit der Narkose zugleich eintritt, schon selbst die Verminderung der O_2-Atmung verursacht. Doch wenn der Alkohol nur indirekt auf die O_2-Atmung einwirkte und direkt die Oxydation der Zellen nicht vermindern, sondern noch erhöhen würde, dann hätte die O_2-Verminderung kleiner sein sollen wie die durch Urethan hervorgerufene, welches Mittel zweifelsohne in beiden Arten die Oxydation beeinflußt hat.

Diesen Unterschied konnte ich zwar nicht finden, aber zwischen den Ergebnissen der Versuche besteht eine solche Schwankung, die diesbezügliche Verwertung dieser verhindert.

Das CNK vermindert in 0,000015 bis 0,0002 g mol. per Liter Lösung die Oxydation der Kaulquappen mit 25 bis 49,0 %, ohne die Tiere zu lähmen, sie werden höchstens ein wenig matt, aber schwimmen von selbst und reagieren auf Reizen rasch und normal. Konzentrierte CNK-Lösungen töten die Tiere in kurzer Zeit.

---

[1]) H. Winterstein, diese Zeitschr. **61**, 81, 1914.

[2]) O. Warburg, Zeitschr. f, physiolog. Chemie **69**, 452, 1910.

Ebenso wie Loeb und Wasteneys[1]), Warburg[2]), Weizsäcker[3]) auch bei anderen Zellen und Organen bewiesen, kann man mit CNK auch bei Kaulquappen die Oxydation vermindern, ohne Narkose hervorzurufen.

Eine andere Art, mit der man die Oxydation ohne Narkose beeinflussen kann, ist die Änderung der O_2-Konzentration des Wassers. Nach Warburg[4]) ist die O_2-Atmung der Seeigeleier unabhängig von dem partialen Druck des O_2. Die Kaulquappen sind aber nach meiner Untersuchung solche Tiere, deren Oxydation von der O_2-Konzentration abhängig ist[5]).

Diese Versuche — Tabelle III — vollführte ich an 3 bis 4,5 cm großen Kaulquappen, mit Ausnahme des 6. und 7. Versuches, zu denen ich kleine Kaulquappen verwendete.

Ich bestimmte die Atmung von je 6 Kaulquappen teils im O_2-armen Wasser, und zwar ohne und mit Narkose, teils im O_2-reichen Wasser.

6 Stück Kaulquappen haben im wachen Zustand in Wasserleitungswasser, das durchschnittlich 0,00068 % O_2 enthielt, während einer Stunde im Mittelwerte 0,25 ccm O_2 verbraucht, hingegen in 0,0023 bis 0,0026 % O_2 enthaltendem Wasser haben sie 0,4026 ccm O_2 verbraucht, also 61 % mehr. Da aber die O_2-Atmung der Kaulquappen in tiefer Narkose höchstens um 40 % sich vermindert, also in mit ca. 20 % kleinerem Maßstabe, als wie die Oxydation sich im O_2-reichen Wasser steigert: deshalb tritt der interessante Fall auf, daß die im O_2-reichen Wasser tief narkotisierten Kaulquappen mehr O_2 verbrauchen als die im O_2-armen Wasser sich befindenden, lebhaft schwimmenden Kaulquappen. So verbrauchten im 1. bis 3. Versuche die im O_2-armen Wasser sich befindenden wachen Kaulquappen während einer Stunde 0,2394 bis 0,2555 ccm O_2, während die in 0,15 bis 0,17 % Paraldehyd enthaltendem O_2-reichen Wasser in tiefer Narkose sich befindenden Tierchen 0,2566 bis 0,2979 ccm O_2 verbrauchten.

In dem 5. Versuche haben die in O_2-armem Wasser sich

---

[1]) Loeb u. Wasteneys, Journ. of Biolog. Chem. **14**, 517, 1913.
[2]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **61**, 308, 1910.
[3]) V. v. Weizsäcker, Arch. f. d. ges. Physiol. **147**, 245, 1912.
[4]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiolog. Chemie **57**, 4, 1909.
[5]) Siehe dazu Pütter, Arch. f. d. ges. Physiol. **168**, 490, 1917.

Tabelle III.

Versuchs-Nr.	Angewendete Lösung	O_2-Atmung im O_2-armen Wasser							O_2-Atmung im O_2-reichen Wasser							Versuchsdauer in Std. u. Min.
		O_2-Konzentration in %	Während d. Versuche		Während 1 Stunde		Verminderung durch Narkose in %	Wirkung	O_2-Konzentration in %	Während d. Versuche		Während 1 Stunde		Verminderung durch Narkose in %	Wirkung	
			in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	in ccm O_2	in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	in ccm O_2				in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	in ccm O_2	in $^n/_{100}$-$Na_2S_2O_3$	in ccm O_2			
1.	Reines Wasser	0,00068	**14,5**	0,9080	4,58	0,2555	40,6	Normal	0,00285	22,45	1,2526	7,09	0,3966	24,5	Normal	3^{10}
	Paraldehyd 0,15%	0,00068	8,6	0,4687	2,66	0,1480		Narkose	0,00285	**16,9**	0,9430	5,33	0,2979		Narkose	
2.	Reines Wasser	0,000675	**13,65**	0,7617	4,41	0,2539	35,6	Normal	0,00232	23,25	1,2973	7,75	0,4324	39,2	Normal	3
	Paraldehyd 0,17%	0,000675	8,8	0,4911	2,93	0,1637		TiefeNarkose	0,00232	**14,16**	0,7895	4,72	0,2632		TiefeNarkose	
3.	Reines Wasser	0,00068	**12,87**	0,7181	4,29	0,2394	44,8	Normal	0,00266	20,5	1,1439	6,83	0,3813	32,6	Normal	3
	Paraldehyd 0,17%	0,00068	7,1	0,3961	2,37	0,1320		TiefeNarkose	0,00266	**13,8**	0,7700	4,6	0,2566		TiefeNarkose	
4.	Reines Wasser	0,000689	**13,1**	0,7310	4,36	0,2436		Normal								
	Amylenhydr. 1:600								0,00155	**11,0**	0,6138	3,66	0,2046		Narkose, auf Reizen reagieren die Kaulquappen gut.	3
	Äther 0,15%									**15,1**	0,8426	5,03	0,2809			
	Alkohol 1 : 70									**12,7**	0,7086	4,23	0,2362			
5.	Reines Wasser	0,0007	**13,45**	0,7505	4,48	0,2502		Normal								
	Amylenhydr. 1:600								0,00237	**19,0**	1,0601	6,33	0,3533		TiefeNarkose	3
	Äther 0,17%								0,00237	**20,3**	1,1315	6,76	0,3772		Narkose	
	Alkohol 1 : 60								0,00237	**13,4**	0,7477	4,46	0,2492		TiefeNarkose	
6.	Reines Wasser	0,00682	**8,0**	0,4464	1,43	0,07971	12,5	Normal								
	Chloroform 1 : 7000	0,00682	7,0	0,3906	1,25	0,0704		Oberflächl. Narkose	0,0025	**10,1**	0,0563	1,80	0,1004		Oberflächl. Narkose	5^{35}
	Äther 0,2%	0,00682	6,7	0,0374	1,19	0,0683	16,3		0,0025	**10,2**	0,0570	1,81	0,1018			
7.	Reines Wasser	0,0068	**10,3**	0,5747	2,57	0,1437		Normal								
	Äther 0,2%								0,00209	**13,5**	0,7533	3,27	0,1884		Narkose	4

befindenden Tierchen 0,2502 ccm verbraucht, und die O_2-Atmung der mit Amylenhydrat und Äther narkotisierten Tierchen machte stündlich in O_2-reichem Wasser 0,3533 bzw. 0,3772 ccm O_2 aus. In dem 6. Versuche haben die kleineren Kaulquappen in O_2-armem Wasser im wachen Zustand 0,0797 ccm O_2, und in O_2-reichem Wasser haben sie, mit Chloroform und Äther narkotisiert, 0,1004 bis 0,1018 ccm O_2 verbraucht. In dem 7. Versuche haben die wachen Tierchen 0,1437 ccm, die narkotisierten aber 0,1884 ccm O_2 verbraucht.

Nur in dem 4. Versuche war die O_2-Atmung, mit Ausnahme des Äthers, während der Narkose kleiner als im wachen Zustand, aber hier enthielt das O_2-reiche Wasser weniger als gewöhnlich (nur 0,00155 $^0/_0$) O_2 und konnte deshalb die durch Narkose verursachte Oxydationsverminderung nicht überkompensieren.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung der Narkotica ist unabhängig von der O_2-Konzentration; die Narkotica wirken auf die Kaulquappen nicht wesentlich stärker im O_2-armen Wasser wie im O_2-reichen Wasser.

2. Während der Narkose vermindert sich die O_2-Atmung der Kaulquappen um 18 bis 40 $^0/_0$. Äthylurethan und Äthylalkohol mäßigt die Oxydation in narkotischer Konzentration in gleichem Maße.

3. Mit CNK kann man die Oxydation der Kaulquappen um 30 bis 40 $^0/_0$ vermindern, ohne die Tiere zu lähmen.

4. Die Zunahme des partialen O_2-Druckes steigert die O_2-Atmung der Kaulquappen wesentlich, ohne die Wirkung der Narkotica zu hemmen oder bedeutend zu schwächen, so daß der O_2-Verbrauch der im O_2-reichen Wasser tiefschlafenden Kaulquappen weit größer ist als der bei normaler O_2-Konzentration wachen Tierchen.

Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie. V.

Über „lösliche und unlösliche“ Kolloide; über echte und unechte Gallerten; das Protoplasma und das Problem der Zellpermeabilität.

(Aus dem chemischen Laboratorium der medizinischen Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Eingegangen am 11. März 1918.)

Die Errungenschaften, welche die physikalische Chemie in bezug auf die Lebensvorgänge zu verzeichnen hat, sind trotz manchen sehr verdienstlichen Arbeiten noch immer sehr bescheiden. Der gegenwärtige Stand dieser und anderer Wissenschaften gestattet noch keineswegs, sich von den wichtigsten der im Innern der lebenden Organismen ablaufenden Vorgänge ein klares Bild zu machen. Am besten dürfte dies der Umstand beweisen, daß noch häufig in biologischen Arbeiten bloße Worte auftauchen, sobald es sich darum handelt, das Wesentliche dieser Vorgänge und ihrer tieferen Zusammenhänge näher zu charakterisieren. Obschon jeder ernst zu nehmende Forscher uns beipflichten wird, wenn wir für die wissenschaftliche Erklärung der Lebenserscheinungen ausschließlich eine streng mechanische (chemische resp. physikalisch-chemische) Auffassung verlangen, so ist eine solche Denkweise doch nur bei wenigen tatsächlich am Werk. Wie schnell wird vergessen, daß Umschreibungen, auch wenn hierzu keine Fremdwörter gewählt werden, keine Erklärungen sind und daß Allegorien (z. B. die Leber „sucht“ diese Wirkung zu überkompensieren; ein Organ „antwortet“ auf einen „Reiz“ mit der Produktion eines „Abwehr-

Fermentes“ usw.) den Fortschritt der Wissenschaft zuweilen eher hemmen als fördern; denn sie täuschen scheinbar Erklärungen vor, wo doch in Wirklichkeit nichts erklärt wurde und öffnen nur zu leicht einer oberflächlichen, versteckt vitalischen Auffassung die Türen.

Wir möchten deshalb nochmals betonen, daß ein Lebensvorgang erst dann aufgeklärt ist, wenn er auf einfache und klare chemische oder physikalische Begriffe zurückgeführt ist, und daß selbst so gebräuchliche Ausdrücke wie Sekretion, Erregung, Erschöpfung und ähnliches die betreffenden Phänomene nur bezeichnen, aber keine Ruhepunkte, geschweige denn ein Abschluß unserer Erkenntnis sein dürfen. Es muß vielmehr unser Ziel sein, das ganze Leben (soweit es Objekt wissenschaftlicher Betrachtung ist[1]) rein physikalich und chemisch aufzulösen, wobei wir unter „Leben“, wie wir schon in einer früheren Mitteilung angedeutet haben, die Gesamtheit der an der organisierten Materie vorkommenden Veränderungen und Umsetzungen (wie Wachstum, Funktion, Tod und Auflösung der Zellen) verstehen[2]). Denn eine getrennte Behandlung der an die Lebensäußerungen im engeren (populären) Sinne gebundenen Vorgänge (etwa im Gegensatz zu jenen, die nach dem Tode stattfinden) wäre ebenso willkürlich wie praktisch undurchführbar.

Die Umstände, die einer kräftigen Entwicklung dieser allein wissenschaftlichen Richtung der Biologie bisher hinderlich waren, sind einerseits die zu weit gehende Spezialisierung vieler Forscher, der zufolge der physikalische Chemiker häufig nur einen engeren Kreis von Sonderproblemen kennt und bearbeitet, während wieder der Physiologe oder Kliniker zu wenig chemische oder physikalische Kenntnisse besitzt, um zu einem tieferen Verständnis der von ihm beobachteten Erscheinungen vorzudringen; wogegen gerade die Anwendung der neueren physikalisch-chemischen Erkenntnisse und chemischen Entdeckungen auf die Physiologie und Pathologie besonders fruchtbar und

---

[1]) Als philosophisches Problem kann das Leben natürlich nicht materialistisch verstanden werden; wissenschaftlicher und philosophischer Materialismus haben aber ganz andere Objekte und Ziele.

[2]) Man denke an die so müßigen und aussichtslosen Erörterungen, warum und womit der Tod in den einzelnen Zellen einsetzt! —

aussichtsreich erscheint. Zweitens fehlte bis vor kurzem eine gründliche Kenntnis über den wichtigsten Grundstoff und Träger aller Lebensvorgänge, über das Eiweiß, das trotz seiner hervorragenden Rolle auffallend lange ungenügend untersucht blieb. Und doch kann nur von dieser Seite ein erfolgreicher Angriff auf die Hauptprobleme der biologischen Forschung gemacht werden.

Die Überzeugung von der großen Bedeutung, die der physikalisch-chemische Zustand der Stoffe für die in den Zellen sich abspielenden Vorgänge hat, ist in den letzten Jahren in stets größeren Kreisen durchgedrungen. Da uns dieses Moment bei den folgenden Untersuchungen ebenfalls immer wieder beschäftigen wird, möchten wir hier zunächst eine übersichtliche Darstellung der hierbei wichtigsten Gesetzmäßigkeiten vorausschicken und einige notwendige Begriffe schärfer herausarbeiten in der Absicht, damit namentlich für den diesem Gebiete ferner Stehenden eine feste Grundlage zu geben.

Wir wenden uns zunächst der Frage zu, wie und unter welchen Bedingungen die einzelnen Stoffe in Lösung gehen, resp. aus ihren Lösungen ausscheiden. Unser erstes Ziel ist daher, über Lösung und Fällung möglichst klare Vorstellungen zu erlangen.

In jeder Flüssigkeit ist das Verhalten der einzelnen Moleküle durch zwei Kräfte beherrscht: durch die Molekularbewegung = Kinetische Energie der Teilchen, die hauptsächlich von der Temperatur abhängig ist resp. als „Temperatur" der Flüssigkeit zum Ausdruck kommt, und durch die gegenseitige Anziehung der Moleküle. Der flüssige Zustand beruht auf der freien Verschieblichkeit der Teilchen, die sich aneinander vorbei bewegen; er besteht so lange, als die Molekularbewegung über die gegenseitige Anziehung der Moleküle überwiegt. Wird die kinetische Energie (bei sinkender Temperatur) immer kleiner, so tritt schließlich bei einer bestimmten, je nach dem Stoff wechselnden Temperatur die Aneinanderlagerung der Teilchen. d. i. das Auskrystallisieren oder Erstarren ein. Bringen wir in eine Flüssigkeit einen fremden Stoff hinein, so kann derselbe entweder keinerlei Affinität zu

den Flüssigkeitsteilchen besitzen (etwa Sand oder Benzol in Wasser), er wird sich daher auch nur ganz vorübergehend und grob in der Flüssigkeit verteilen (emulgieren) lassen. Oder der Stoff verbindet sich mit der Flüssigkeit, dann kann diese Bindung entweder eine feste, dauernde sein, die nur durch besondere Mittel und Kunstgriffe wieder trennbar ist und ganz neue Eigenschaften aufweist (z. B. Natrium im Wasser); oder es kommt nur zu einer lockeren, relativ leicht wieder trennbaren Verbindung, wofür die „Lösung" im gewöhnlichen Sprachgebrauch zahllose Beispiele bietet. Die Stoffe bewahren hierbei meist weitgehend ihre ursprünglichen Eigenschaften. Ohne derartige Bindungen zwischen gelöstem Stoff und Lösungsmittel gibt es unserer Ansicht nach keine Auflösung, und die verschiedenen Grade der Löslichkeit sind nichts anderes als der Ausdruck für die wechselnde Avidität, mit welcher diese Bindung eintritt und wieder aufgehoben werden kann. Dies gilt in gleicher Weise für Lösung in Wasser wie in anderen Lösungsmitteln, z. B. den bekannten Lipoid- und Fettlösungsmitteln, in welchen diese Stoffe ebenfalls nur darum molekular verteilbar sind, weil sie sich damit verbinden. Für die folgenden Erörterungen ziehen wir vor allem wässerige Lösungen in Betracht, da sie für die Biologie die wichtigsten sind. Doch lassen sich jeweils genau dieselben Gesetzmäßigkeiten und die folgenden Gruppeneinteilungen natürlich für beliebige Lösungsmittel erwarten und dürften das Verständnis des chemischen Verhaltens der darin gelösten Stoffe wesentlich erleichtern.

Wir stellen uns somit entschieden auf den Boden der sogenannten Hydrat-Theorie der Lösungen, im Gegensatz zu der hauptsächlich von van't Hoff begründeten Auffassung der Lösungen als bloßer Verteilungen des gelösten Stoffes im Lösungsmittel. Auf die physikalisch-chemischen Gründe, die für die Annahme von Verbindungen von gelöstem und lösendem Stoff sprechen, können wir natürlich nicht im einzelnen eingehen, um so weniger, als diese Theorie noch nicht allgemein angenommen ist und vieles noch einer weiteren Bearbeitung bedarf. Doch müssen hier einige Vorstellungen näher entwickelt werden, die uns für das Verständnis vieler biochemischer Probleme, z. B. für die Frage

nach der Zellpermeabilität und dem Zellstoffwechsel, unentbehrlich erscheinen[1]).

Die Lösung, das ist somit die Verteilung eines Stoffes in einem anderen infolge seiner Verbindung mit demselben, kann nach verschiedenen Grundtypen erfolgen, und wir möchten deshalb drei Gruppen unterscheiden, für deren jede eine besondere Art der Beziehung zwischen gelösten Teilchen und Lösungsmittel anzunehmen ist. Es braucht wohl kaum betont zu werden, daß diese Einteilung eine rein begriffliche ist und in der Natur zahlreiche Übergänge zwischen diesen Gruppen vorkommen, mit denen wir uns ebenfalls beschäftigen werden.

Die erste Gruppe bilden die molekulardispersen Lösungen, wie sie die krystalloiden Körper in der Regel ergeben. Die Aufteilung des Stoffes geht hierbei, wie der Name sagt, so weit, daß derselbe in seine Moleküle (oder sogar in Ionen, falls Dissoziation besteht) zerfällt und diese kleinsten Teilchen, mit Wasser verbunden, sich frei durcheinander bewegen. Vieles spricht dafür, daß hierbei nicht nur einige wenige Wassermoleküle direkt und relativ fester an die gelösten Moleküle gebunden werden (etwa entsprechend dem Gehalt an Krystallwasser, den viele Salze aufweisen), sondern daß das Wasser auch noch in einem viel weiteren Kreise zu dem gelösten Teilchen in Beziehung steht, von demselben, wenn auch nur ganz locker, angezogen wird[2]). Durch die direkte Verbindung mit dem Wasser wird gewissermaßen ein innerer Wasser-

---

[1]) Namentlich für die Erklärung der Beeinflussung der hydrophilen Kolloide durch Neutralsalze wurde die Hydrattheorie in den letzten Jahren immer mehr herangezogen und durch eine Reihe von Beobachtungen gestützt; wir haben manche der hierher gehörigen Tatsachen schon in unseren früheren Mitteilungen besprochen und werden im folgenden noch oft auf diese Beziehungen zurückkommen müssen. — Es war uns nicht möglich, mit den durch van't Hoff gegebenen Vorstellungen zu einer befriedigenden Erklärung vieler biochemischer Vorgänge zu gelangen. Aber auch für zahlreiche rein physikalisch-chemische Probleme versagen dieselben. Wir weisen nur z. B. auf die Unmöglichkeit hin, die Tatsache, daß ein so flüchtiger Stoff wie Benzol sich in Wasser nicht löst, zu verstehen, wenn eine bloße Verteilung als Ursache der „Lösung" angenommen wurde.

[2]) Z. T. ähnliche Vorstellungen wurden von Lenard (Ref. in Naturwissenschaften 1918, S. 82) entwickelt und als „komplexe Moleküle" bezeichnet.

mantel um das Teilchen geschaffen, der je nach Natur und Größe der Moleküle wechselt (s. u. bei Löslichkeit). Dieser innern Zone gegenüber sind die größern Wassersphären, die in weiterem Umfange um die Teilchen auftreten, anscheinend von der chemischen Beschaffenheit derselben in hohem Maße unabhängig und treten um jedes beliebige Molekül (oder Ion) auf, wofern es nur eben gelöst, d. h. mit direkt gebundenem Wasser umgeben ist. Diese äußeren Wasserzonen übertreffen um ein Vielfaches die inneren. Ob zwischen dem außen und dem innen befindlichen Wasser ein qualitativer Unterschied in der Art der Bindung anzunehmen ist oder nicht, sei dahingestellt. Gewiß aber unterscheiden sie sich in der Intensität der Bindung, insofern als die äußern Wassermoleküle bei der fortwährenden Bewegung und Verschiebung der Teilchen, wie sie infolge des flüssigen Zustandes herrscht, immer wieder abgestreift werden und wechseln, während die inneren zweifellos mit dem gelösten Teilchen sich bewegen und erst beim Auskrystallisieren oder Abdampfen des Wassers (und selbst dann nicht immer) abgetrennt werden. Die den äußeren Schichten der Wassersphäre zugehörigen Moleküle sind somit entsprechend ihrer Entfernung vom Kern mehr oder weniger locker festgehalten; sie stellen das Gleitmaterial vor, das durch seine weitgehende Bewegungsfreiheit die leichte Verschieblichkeit der gelösten Teilchen ermöglicht. Erst wenn diese äußern Sphärenteile infolge Vermehrung der gelösten Teilchen (Steigen der Konzentration) immer kleiner werden (weil immer mehr Wasser als innere Zone direkt gebunden wird), kann die Durcheinanderbewegung der Teilchen abnehmen, was als größere innere Reibung (Viscosität) zum Ausdruck kommt. Sind die Moleküle (samt ihren Sphären) klein, wie dies für die meisten Salze der Fall ist, so bleibt die Verschieblichkeit auch ohne viel Gleitmaterial (locker haftendes Wasser) gut, die Viscosität ist daher auch in konzentrierten Lösungen eine nur mäßig erhöhte; groß molekulare Stoffe (z. B. Zucker) zeigen dagegen schon hohe innere Reibung (Übergang zur nächsten Gruppe). Denn je größer die Teilchen, desto schwerer können sie sich aneinander vorbeischieben, namentlich sobald das Gleitmaterial (locker gebundenes Wasser) spärlich wird. Mit der Sphärenbildung hängt ferner der osmo-

tische Druck der Lösung zusammen, der darauf beruht, daß jedes Teilchen, dessen Sphäre nicht ganz ausgebildet ist, diese durch weitere Wasseranziehung zu ergänzen trachtet und daher Wasser ansaugt.

Es gibt im Wasser leicht, schwer und unlösliche Stoffe. Je leichter die Verbindung mit Wasser eintritt, desto löslicher ist ein Stoff, je mehr Wassermoleküle er im Vergleich zu seiner Molekülgröße bindet, desto stabiler wird seine wässerige Lösung sein. Schlecht löslich sind solche Stoffe, die sich nur langsam und mit wenig Wasser verbinden. Führt man bei einem solchen Lösungsvorgang kinetische Energie (Wärme) zu, so geht derselbe leichter von statten, weil die größere Bewegung der Teilchen deren molekulare Verteilung und folgende Verbindung mit Wasser erleichtert. Gleichwohl läßt sich von vielen Stoffen auch in der Wärme eine größere Konzentration in Wasser nicht erzielen, weil die einzelnen Teilchen nur so wenig Wasser binden, daß sie ungenügend isoliert sind, sie bleiben daher nur dann im Wasser verteilt, wenn sie darin so spärlich vorkommen, daß sie nur ganz selten aufeinander treffen. So wie ihre Zahl dagegen größer ist (z. B. beim Versetzen einer $BaCl_2$-Lösung mit Schwefelsäure die entstehenden, unlöslichen $BaSO_4$-Moleküle), lagern sie sich sofort aneinander und fallen als Niederschlag aus.

Was bei schwer löslichen Stoffen schon bei Gegenwart von viel Lösungsmittel gilt, tritt für leicht lösliche dann ein, wenn das Lösungsmittel knapp wird, wenn also ihre Konzentration sehr hoch oder wenn durch andere Stoffe das Wasser entzogen wird. In einer gesättigten Lösung hat jedes gelöste Teilchen nur noch ebensoviel Wasser für sich zur Verfügung, als es braucht, um noch von den anderen isoliert zu sein. Setzen wir noch weiteres Salz zu oder entziehen wir Wasser, so können sie nicht mehr stabil sein, da jetzt ihre gegenseitige Anziehung überwiegt. Durch Erhöhung der Eigenbewegung (Erhitzen) kann hier zunächst noch Abhilfe geschaffen werden, so daß noch weiterer Stoff aufgelöst werden kann; beim Wiederabsinken der Temperatur müssen die ungenügend mit Wasser versehenen Teilchen sich dagegen aneinanderlegen und auskrystallieren.

Die Löslichkeit an sich wenig löslicher Stoffe kann da-

durch wesentlich verändert werden, daß sich dieselben mit einem leicht löslichen verbinden. Die Chemie bietet hierfür unzählige Beispiele; wir erwähnen nur das ganz unlösliche AgCl, das durch Verbindung mit NH_3 sofort zu einem hochlöslichen Doppelsalz wird, oder die auch in heißem Wasser kaum lösliche Harnsäure, von der man durch Verteilen mit Lithium Carbonicum in Wasser leicht eine 1 $^0/_0$ ige Lösung herstellen kann. Der gut lösliche Anteil der neu entstandenen Verbindung vermittelt hier die Lösung (Wasserbindung) des un- resp. schlecht löslichen; wir möchten aber den Ausdruck „Lösungsvermittler", der uns im folgenden noch eingehend beschäftigen wird (s. Gruppe 3), nicht auf derartige Fälle anwenden und diesen Begriff für Stoffe reservieren, die einen anderen unlöslichen löslich machen, nicht, indem sie sich mit ihm zu einem ganz neuen Körper verbinden, sondern bloß, nachdem sie von dessen Oberfläche adsorbiert wurden.

Wenn in einer molekular dispersen Lösung ein zunehmender Mangel an Lösungsmittel eintritt, kommt es häufig zur Aneinanderlagerung von mehreren Molekülen zu kleinen Gruppen, ohne daß schon ein Auskrystallisieren erfolgt. Die Lösung wird dadurch gröber dispers, was sich durch gewisse physikalische, speziell optische Eigenschaften, die in solchen Lösungen auftreten, erkennen läßt. Diese Neigung zur Komplexbildung oder Polymerisation ist anscheinend sehr verbreitet, ja das Wasser selbst bildet, wie die Untersuchungen von Schade wahrscheinlich machen, unschwer solche Molekülvereinigungen. Namentlich schwache Molekularbewegung ist für eine derartige Aneinanderlagerung der Moleküle günstig; deshalb führt Abkühlung so häufig zu Niederschlägen, während umgekehrt hohe Temperatur bestehende Komplexe zu zerteilen pflegt. Da sich ferner die Komplexbildung in einer stärkern innern Reibung der Lösung äußert, so dürfte die bekannte Tatsache, daß Wasser und viele Lösungen bei niederer Temperatur eine größere Viscosität besitzen, gleichfalls mit diesem Phänomen zusammenhängen und dadurch erklärbar sein.

Wir befinden uns hiermit bei den Zwischenstufen zur folgenden zweiten Gruppe, der die Kolloide angehören. Hierher werden zweckmäßig allerdings nur solche Stoffe gestellt, die nicht nur ausnahmsweise (wie die obigen Körper),

sondern vielmehr in der Regel so gelöst vorkommen, daß sie eine deutliche Dishomogenität der Lösung bewirken. Dies ist einerseits bei denjenigen Körpern der Fall, die an sich sehr große Moleküle besitzen (z. B. Agar), oder deren Moleküle sich sehr leicht zu Komplexen vereinigen und dadurch einen gröber dispersen Bau der Lösung bedingen. Werden diese Verbindungen durch gewisse Einwirkungen, z. B. Erhitzen gelöst, so können sie ihren Kolloidcharakter verlieren und sich wie molekular disperse Stoffe verhalten, wofür die Gelatine ein typisches Beispiel ist (Arisz). Hier kann unter geeigneter Bedingung (genügender Wassergehalt der Lösung usw.) in der Wärme der kolloide Zustand aufgehoben sein, um beim Abkühlen, sobald die weniger bewegten Teilchen sich wieder zu Gruppen aneinander lagern, von neuem aufzutreten.

Die typischen Kolloide zeichnen sich auch dadurch aus, daß sie sich mit dem Wasser (soweit Hydrosole in Betracht kommen) zwar auch verbinden, jedoch nicht nach Art der Krystalloide größere Sphären desselben um sich anziehen, sondern es bloß in geringem Umfang an ihre Oberfläche binden. Dadurch ist gegeben, daß ihre Lösungen keinen nennenswerten osmotischen Druck besitzen; andererseits hat die Teilchengröße und das Fehlen von äußern (locker gebundenen) Wasserzonen eine viel größere Viscosität zur Folge, die namentlich bei stärkeren Konzentrationen bis zur Aufhebung des flüssigen Zustandes gehen kann (Gallertenbildung, s. u.).

Wir möchten alle derart kolloidlöslichen Stoffe in eine zweite Gruppe zusammenfassen und dieselben im Gegensatz zur folgenden Gruppe als „lösliche Kolloide“ bezeichnen. Wir verstehen darunter Lösungen von solchen in kaltem oder heißem Wasser löslichen Stoffen, die sich in ihren Eigenschaften als nicht mehr homogen (kolloid-dispers) erweisen, sei es weil ihre Moleküle an sich sehr groß sind, oder weil dieselben unter dem Einfluß bald mehr chemischer, bald mehr physikalischer Kräfte zu größeren Komplexen zusammengetreten sind. Charakteristisch ist somit für alle Vertreter dieser Gruppe ihre Wasserlöslichkeit und Teilchengröße, wogegen die chemische Zusammensetzung an Bedeutung zurücktritt; deshalb finden wir chemisch ganz verschiedene

Stoffe unter den löslichen Kolloiden, wie Gelatine, Saponin, Agar usw.

Da es sich bei dem Auftreten und Verschwinden des kolloiden Zustandes der in diese zweite Gruppe gehörigen Stoffe bloß um Lösungsunterschiede handelt, welche durch Faktoren, wie Wassergehalt, Temperatur usw., bedingt sind, so kann der Wechsel von kolloidem zu nicht kolloidem Zustand beliebig oft hervorgebracht werden. (Reversible Kolloide.) Es muß hierbei freilich vermieden werden, daß durch die hierzu notwendigen Eingriffe chemische Umwandlungen des betreffenden Stoffes ausgelöst werden (z. B. hydrolytische Aufspaltung der Gelatinepolypeptide durch zu starke Erhitzung), da sonst mit der chemischen Eigenart auch die physkalisch-chemische Natur derselben sich ändern kann[1]). Es sei noch erwähnt, daß manche an sich nicht lösliche Stoffe, ganz ähnlich wie sie durch Verbindung mit leicht löslichen gut molekular verteilbar werden, durch dasselbe Hilfsmittel auch zu kolloider Verteilung gebracht werden können. So gibt z. B. durch Lithiumsalz löslich gemachte Harnsäure eine deutlich kolloide Lösung, die beim Stehen allmählich von fein disperser bis zu grob kolloider (gelartiger) Struktur sich umwandelt. Mit derartigen Beispielen sind wir wieder bei den Übergängen zur folgenden Gruppe angelangt. Diese dritte Gruppe von Lösungen ist jene der „unlöslichen Kolloide“; sie umfaßt an sich ganz unlösliche Stoffe, die dadurch zu kolloider Verteilung gebracht sind, daß sie andere lösliche Körper an ihrer Oberfläche adsorbiert haben; die letzteren spielen hierbei die Rolle von Lösungsvermittlern und können entweder auf irgendeine Weise in die Lösung gelangt oder auch an Ort und Stelle durch Aufspaltung des an sich unlöslichen Stoffes selbst entstanden sein. Als wesentlich für den Begriff Lösungsvermittler möchten wir hervorheben, daß dieselben mit dem zu lösenden Stoff nicht so vereinigt sein dürfen, daß dadurch ein ganz neuer

---

[1]) Da der kolloide Zustand auch der in die dritte Gruppe gehörigen Kolloide reversibel aufgehoben werden kann (z. B. beim Eintrocknen oder vorsichtigen Ausfällen und folgendem Wiederauflösen von Eiweiß), so eignen sich die Ausdrücke: reversible und irreversible Kolloide nicht, um diese beiden Gruppen voneinander zu trennen.

Körper mit wesentlich anderen Eigenschaften entsteht, sondern bloß adsorbiert oder, da Adsorptionen doch meist auf Grund chemischer Affinitäten erfolgen, nur locker gebunden sind, so daß der gelöste Stoff in seinen chemischen Eigenschaften nicht eigentlich tiefer verändert ist.

Ein Schulbeispiel für derart gelöste Kolloide bieten die Eiweißkörper, deren Lösung man bisher meist als chemisch einheitliche Individuen aufgefaßt hatte, von denen wir aber nachweisen konnten, daß sie stets nicht unbeträchtliche Mengen ihrer Abbauprodukte enthalten. Eine Eiweißlösung besteht aus den eigentlichen, in Wasser ganz unlöslichen Eiweißteilchen, (die aus hochmolekularen Polypeptiden zusammengesetzt sind) und aus niedrigeren Spaltstücken derselben Peptide, die an diese Teilchen adsorbiert sind. Diese Abbauprodukte sind je tiefer desto besser wasserlöslich und ermöglichen dadurch die Löslichkeit = kolloide Verteilbarkeit der Eiweißpartikelchen. Wird diese Lösung zum Kochen erhitzt, so gehen die Abbauprodukte, unter teilweise weiterer Aufspaltung, frei in Lösung über, die Eiweißteilchen verarmen an ihnen und können sich, da sie dadurch ihrer Lösungsvermittler beraubt sind, nicht mehr in kolloider Verteilung halten: sie nähern sich aneinander, verkleben und fallen als Flocken oder massiges Koagulum aus. Wechselt man das Kochwasser, welches die Abbauprodukte enthält und kocht neuerdings, so können die noch am Koagulum adsorbierten Reste von Abbauprodukten immer mehr herausgelöst werden, bis schließlich nach mehrmaliger Wiederholung dieser Prozedur ein reines, d. h. von Abbauprodukten freies und daher völlig unlösliches Eiweißpräparat erhalten wird.

Wollen wir derart unlöslich gewordenes Eiweiß wieder in Lösung bringen, so müssen wir ihm wieder Lösungsvermittler in geeigneter Menge und Verteilung verschaffen. Dies kann entweder durch Zusatz von Eiweißabbauprodukten geschehen, (wie solche z. B. das wirksame der sogenannten proteolytischen Fermente, der Verdauungssäfte usw. bilden), die an den entblößten Oberflächen der Eiweißteilchen adsorbiert werden und diese dadurch allmählich wieder in kolloide Verteilung zurückführen. Leichter kann derselbe Zustand durch Zusatz von Alkali oder Säure erreicht werden; diese spalten das ausgefällte Eiweiß selbst auf und machen daher rasch eine große Menge von

tieferen wasserlöslichen Spaltstücken dieser Polypeptide frei, die am Ort ihrer Entstehung adsorbiert, sofort als Lösungsvermittler in Aktion treten. Man kann mit den Augen verfolgen, wie das ursprünglich unlösliche Koagulum sich aufhellt und sich wieder kolloid verteilt. Daß die Lösung tatsächlich Eiweiß enthält, läßt sich durch Aufkochen derselben (nach Neutralisieren) erweisen, wobei neuerlich ein Koagulum von Eiweiß ausgefällt wird, während im Filtrat reichlich biurete und abiurete Peptide nachweisbar sind. Nur wenn die hydrolytische Aufspaltung so weit getrieben wurde, daß alles Eiweiß in wasserlösliche Spaltstücke (die nur in heißem Wasser löslichen Albumosen, die auch schon in der Kälte ziemlich gut löslichen Peptone und in niedere, gut lösliche Peptide und Aminosäuren) umgewandelt ist, gibt die Lösung beim Kochen kein Koagulum mehr. Sie gehört jetzt auch nicht mehr zu unserer dritten, sondern in die zweite Gruppe, da sie aus an sich wasserlöslichen (wenn auch zum großen Teil kolloiden) Stoffen besteht.

Wir haben im vorhergehenden ein typisches Beispiel einer sogenannten Peptisation kennen gelernt, d. h. der kolloiden Auflösung eines an sich unlöslichen Körpers durch Vermittlung von selbst wasserlöslichen Stoffen. Jede Eiweißlösung, sei es, daß sie aus dem Tier- oder Pflanzenreiche stamme, zeigt diesen beschriebenen Bau. Jederzeit kann dieselbe durch Kochen bei neutraler Reaktion in ein Koagulum aus an sich unlöslichem Eiweiß und in eine Lösung von Abbauprodukten, die als Lösungsvermittler die kolloide Verteilung aufrecht erhalten hatten, getrennt werden. Lösungen, die bei neutraler Reaktion erhitzt keine Koagulation ergeben, können daher nicht als Eiweißlösungen bezeichnet werden. Dies gilt z. B. von der Gelatine, die bisher allgemein als Eiweißkörper bezeichnet wurde; ganz mit Unrecht, denn sie wird beim Erhitzen im Gegenteil nur leichter löslich, sie besteht vielmehr bloß aus albumosenartigen, (in heißem Wasser gut, in kaltem Wasser schlecht) aber doch durchgehends wasserlöslichen Polypeptiden und ist deshalb von den Eiweißkörpern gänzlich abzutrennen [1]).

[1]) Wer an dem Nicht-Eiweißcharakter der Gelatine zweifelt, versetze flüssige Gelatine mit Sublimatlösung; es ergibt sich eine opak-weiße Fällung, die beim Erwärmen wieder vollständig verschwindet!

Es sei hier betont, daß zwischen einer wirklichen Peptisation, wobei die Spaltprodukte die unlöslichen Eiweißteilchen in Lösung halten, und einer Verteilung von pulverisiertem Eiweiß mit Hilfe von hydrotropischen Salzlösungen nach Neuberg ein wesentlicher Unterschied besteht. Dies dürfte aus folgendem Beispiele klar werden: Wenn man Hühnereiweiß einmal im nativen Zustande trocknet, ein anderes Mal, nachdem es durch gründliches Auskochen von seinen Abbauprodukten befreit wurde, und beide Präparate pulverisiert und in einer 50 %igen Lösung von Na-Benzoat oder Salicylat suspendiert, so erhält man jedesmal eine durchscheinende „Lösung". Zentrifugiert man die ungelöst gebliebenen Teile ab, so zeigt sich aber, daß nur in jener Lösung, in welcher das mit Abbauprodukten versehene Eiweiß eingebracht worden war, wirklich Eiweiß in kolloide Verteilung übergegangen ist und durch Hitzekoagulation nachweisbar ist; wogegen der andere Abguß beim Kochen ungetrübt bleibt. Wir können mit den hydrotropischen Lösungen wohl eine Art von Quellung erzeugen, die dadurch zustande kommt, daß der in Wasser unlösliche Stoff den leicht löslichen (und mit ihm Wasser) an seine Oberflächen und in alle Risse und Spalten aufnimmt und dadurch sich in seinem Brechungsexponenten demjenigen des Mediums nähert (ähnlich wie z. B. Fett eine mattierte Glasscheibe oder Papier durchscheinend macht). Wesentlich ist aber, daß hierbei eine eigentliche kolloide Lösung nicht erreicht wird.

Aus dem vorhergehenden gelangen wir daher zu folgender Definition der Eiweißkörper: Eiweißkörper sind hochmolekulare polypeptidartige Verbindungen von Aminosäuren, die an sich wasserunlöslich sind, aber durch wasserlösliche Spaltstücke in kolloide Verteilung überführbar sind und aus solchen Lösungen bei neutraler Reaktion durch Hitze ausgefällt werden. Wesentlich ist somit nicht der kolloide Zustand ihrer Lösungen als solcher, sondern das Vorhandensein von unlöslichen Teilchen einerseits, von Lösungsvermittlern andrerseits, die die hochdisperse Verteilung ermöglichen. Die Adsorption oder lockere Bindung dieser lösungsvermittelnden Stoffe erfolgt auf Grund chemischer Verwandtschaft, weshalb die dem betreffenden Eiweiß in ihrer Zusammensetzung nahestehenden Abbauprodukte stets besser peptisieren als fremdartige, eine Tatsache, die die bekannte (relative) Spezifität der Abbau„fermente" erklärt.

Das Vorkommen krystallisierter Eiweißkörper beruht bloß auf dem Gehalt solcher Körper an Salzen resp. Salzverbindungen, die auskrystallisieren, wobei die Krystalle in sich die Eiweißteilchen mit einschließen; es liegt somit bloß eine Scheinkrystallisation vor.

Ähnlich wie bei den Eiweißkörpern liegen die Verhältnisse, soweit sie gegenwärtig überblickt werden können, bei vielen Kolloiden, die aus zum Teil unlöslichen Komponenten sich zusammensetzen. Wir weisen hier nur auf die Polysaccharide hin, die ebenfalls, wie z. B. die Stärke, aus an sich unlöslichen, hochmolekularen Teilchen besteht, die in reinem Zustande ganz wasserunlöslich sind, dagegen durch ihre wasserlöslichen Spaltstücke (Erythro- und Achroodextrin, Maltose, Dextrose) in kolloide Lösungen (Kleister) übergeführt werden können. Dasselbe dürfte wohl auch für die kolloide Verteilung der Lipoide und Fette gelten, wobei nicht nur Spaltprodukte dieser Stoffe selbst (Seifen usw.), sondern zum Teil auch Eiweißspaltprodukte als Lösungsvermittler eine Rolle spielen usw.

Alle Maßnahmen, die geeignet sind, die Lösungsvermittler zu entfernen oder in eine untaugliche Form umzuwandeln, müssen die kolloide Verteilung der in unsere dritte Gruppe gehörigen Stoffe stören oder aufheben. Wir wählen als Beispiele wieder eine Eiweißlösung, z. B. eine Lösung von Fibrinogen. Diese besteht aus relativ großen, nur durch wenige Abbauprodukte eben noch in kolloider Verteilung erhaltenen Partikelchen. Werden denselben z. B. durch Dialyse diese spärlichen Lösungsvermittler entzogen, so fallen die Eiweißteilchen aus, während in die Dialysatflüssigkeit Eiweißabbauprodukte nachweisbar übergetreten sind. Eine andere Möglichkeit der Ausfällung besteht darin, daß wir den Teilchen das Wasser und mit demselben die wasserlöslichen Abbauprodukte entziehen. So wirkt z. B. Zusatz von 4- bis 5fachem Volumen absoluten Alkohols. Man erhält dadurch namentlich nach Aufkochen des Alkohols eine Fällung, die aus zusammengeklebten, unlöslichen Eiweißpartikelchen besteht, während in der wäßrigen Alkohollösung die Hauptmenge der Abbauprodukte (wenigstens der tieferen, leicht löslichen) angetroffen wird. Ganz analog wirken andere Wasser entziehenden Mittel, wie konzentrierte Neutralsalzlösungen usw. Aber auch die Umwandlung der Lösungsvermittler in weniger wasserlösliche Körper kann zur Eiweißfällung führen. Setzt man zu einer nativen Eiweißlösung, die meist bicarbonatalkalisch ist und daher die Alkalisalze der Abbauprodukte an den Kolloidoberflächen enthält, eine geringe Menge einer stärkeren Säure zu, so werden die löslichen Alkalisalze der Aminosäuren und

Peptide in schwerer lösliche freie Säuren umgewandelt. Die Löslichkeit der Teilchenoberfläche wird dadurch herabgesetzt, dieselben verkleben daher und flocken aus. Wird dagegen von vornherein ein Überschuß von Säure angewandt, so bleibt diese Fällung aus. Denn jetzt ist genügend Säure zugegen, um neben der Absättigung der COONa-Gruppen eine Bindung von freier Säure an die NH_2-Gruppen (nach Art der Pfeifferschen Salzverbindungen) zu gestatten, wodurch die Löslichkeit der Abbauprodukte wieder besser wird, jedenfalls hinreicht, um eine Fällung zu verhindern. Die Lösung bleibt daher selbst beim Kochen stabil („Acidalbumine").

Fügt man zu einer kolloiden Lösung, z. B. von Eiweiß, die Lösung eines Schwermetallsalzes, so erfolgt auch hier eine Umwandlung der Abbauprodukte aus dem Typus NH_2-NaCl-COONa in NH_2-$HgCl_2$-COONa, was infolge geringerer Löslichkeit dieser Verbindung ganz wie oben zur Ausfällung führt.

Dieselben Fällungen mit Alkohol, Phosphor-Wolframsäure, Pikrinsäure usw. geben auch Lösungen von Eiweißabbauprodukten, die der zweiten Gruppe angehören, z. B. Gelatinelösungen. Denn diese Stoffe werden natürlich auch dort schwer resp. unlöslich, wo sie nicht als Löslichkeitsvermittler für andere unlösliche Partikelchen dienen, sondern für sich allein vorkommen. Dieser Umstand war der Grund, warum Gelatine als Eiweißkörper angesprochen wurde. Während aber hier der ganze Stoff von dem Reagens betroffen wird, blieb dort das Eiweiß an sich ganz unberührt und wird nur indirekt in die Fällung einbezogen, weil seine Löslichkeitsvermittler affiziert wurden. Es besteht also ein prinzipieller Unterschied, der freilich bei den angeführten Fällungsmitteln nicht hervortreten kann und erst bei der Hitzekoagulation zum Ausdruck kommt; bei dieser werden die einen Stoffe nur noch besser löslich, die andern dagegen koagulieren.

Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß die kolloiden Lösungen der Gruppe III, wenn sie einmal durch Wegnahme oder Veränderung ihrer Lösungsvermittler ausgefällt sind, nicht mehr in den früheren Zustand zurückgebracht werden können, es sei denn, daß man durch teilweise Aufspaltung des Koagulums, also auf Kosten eines Teiles des ursprünglich gelösten Stoffes oder auf sonst geeignete Art wieder neue Lösungsvermittler in

entsprechender Verteilung auf sie bringt (irreversible Kolloide). Wogegen Stoffe aus Gruppe II, wenn sie durch ein schonendes Verfahren ausgefällt wurden (durch Wasserentziehung, z. B. Gelatine durch Alkohol), durch Wasserzufuhr immer wieder leicht (namentlich bei Erwärmen) in den kolloid-flüssigen Zustand zurückführbar sind. Sie treten eben aus eigenem Vermögen mit Wasser in Verbindung, während die Körper der Gruppe III nie als solche, sondern immer nur dank den ihnen als Beimengung („Verunreinigung") anhaftenden oder künstlich zugesetzten oder durch Aufspaltung aus ihnen frisch erzeugten wasserlöslichen Spaltprodukten in Lösung gehen. Die Auflösung (Peptisation) ist bei Körpern dieser Gruppe somit eine indirekte, bei den andern eine direkte.

Nicht nur die hochmolekularen Körper, wie Eiweiß, Stärke usw., sondern auch chemisch nicht zerlegbare, zugleich aber unlösliche Stoffe können in den kolloiden Zustand übergeführt werden, wie Metalle, Schwefel usw. Wenn man Platinelektroden in schwach alkalischem Wasser durch den Strom zerstäuben läßt, so adsorbieren die abgerissenen und fein verteilten Pt-Teilchen etwas von dem in Lösung vorhandenen Alkali und bleiben dank diesen Löslichkeitsvermittlern in kolloider Verteilung. (Auch bei den meisten andern kolloiden Metallen dient Alkali als Lösungsvermittler. Zwar können auch in reinem Wasser kolloide Lösungen erhalten werden, die aber im allgemeinen weniger stabil sind; es kann eben auch adsorbiertes Wasser selbst resp. dessen Ionen eine gewisse Löslichkeit der Oberfläche ergeben.) Bei der Herstellung von kolloiden Metallen durch Reduktion aus ihren entsprechenden Salzlösungen muß ebenfalls so verfahren werden, daß die frei werdenden Metallmoleküle resp. Molekülkomplexe in ein Medium hinein abgeschieden werden, in dem sich wasserlösliche adsorbierbare Stoffe wie Alkali oder leicht lösliche Salze vorfinden; sonst erfolgt eine spontane Ausfällung gröber disperser Partikel, weil eben die Löslichkeitsvermittler und mit ihnen die isolierenden Wasserhüllen fehlen. Daß diese gleichwohl nur schwach ausgebildet sind, zeigt die große Empfindlichkeit derartiger Kolloidlösungen gegen Salze usw., sowie ihr geringer osmotischer Druck usw. Bei allen diesen Lösungen können natürlich nicht beliebige wasserlösliche Stoffe sich gegenseitig vertreten, sondern jeweils nur solche Stoffe

als Löslichkeitsvermittler fungieren, die an die in Lösung zu bringenden Partikelchen auf Grund chemischer Affinitäten adsorbiert und daran festgehalten werden.

Schutzkolloide. Die im vorhergehenden entwickelten Vorstellungen ermöglichen uns, auch eine Erklärung der Wirkung der sog. Schutzkolloide zu geben. Als solche müssen alle kolloid gelösten Stoffe wirken, die als Löslichkeitsvermittler an die Oberfläche an sich wenig stabiler Partikelchen adsorbiert werden können und dadurch deren kolloide Verteilung ermöglichen resp. erleichtern. Es ist auch klar, daß nicht nur Kolloide, sondern auch molekular gelöste Stoffe, wofern sie von Kolloidteilchen adsorbiert werden, diese stabilisieren können, also ähnlich wie Schutzkolloide wirken müssen. Doch ist die Wirkung in der Regel bei Vertretern der zweiten Gruppe, z. B. Gelatine, deutlicher, weil diese Teilchen wegen ihrer Größe sich sehr leicht mit andern z. B. kolloiden Metallteilchen adsorbieren; während die letzteren nur durch wenige Wasser- oder Alkaliionen in mühsamem Gleichgewicht waren, erfahren sie durch die Gelatineadsorption eine wesentliche Erhöhung ihrer Löslichkeit, d. h. Stabilität.

Auch die katalytischen Wirkungen solcher kolloider Metallsolen möchten wir auf ihre stark adsorbierenden Eigenschaften zurückführen. Man kann sich vorstellen, daß z. B. in einer H_2O_2-Lösung stets eine geringe Dissoziation besteht, indem vereinzelte Moleküle in H_2O und O gespalten sind. Bringt man eine stark adsorbierende Oberfläche wie kolloid verteiltes Pt hinein, so wird der durch Dissoziation frei werdende O sofort an dessen Oberfläche gebunden, weshalb wieder neue H_2O_2-Moleküle dissoziieren können. Auch deren O wird sofort wieder gebunden, die Partikelchen reichern sich immer mehr an O_2 an, bis dieses in Form von Gas entweicht, während immer mehr H_2O_2 sich aufspaltet usw. Die Katalyse beruht somit im wesentlichen auf der adsorbierenden Eigenschaft von kolloid verteilten oder sonst (wie bei Fibrin) mit großer Oberfläche versehenen Stoffen.

Eine besondere Eigenschaft mancher kolloider Lösungen, die auch für die Biologie von Interesse ist, ist deren Fähigkeit, unter bestimmten Bedingungen als Gallerten zu erstarren.

Auch hier unterscheiden sich die löslichen und die unlöslichen Kolloide voneinander, worauf im folgenden näher eingegangen werden muß.

Damit ein Stoff in den Zustand einer Gallerte übergehen kann, ist erforderlich, daß alles ursprünglich in der Lösung vorhandene Wasser gebunden sei. Der flüssige Zustand beruht ja darauf, daß sich die einzelnen, eine Flüssigkeit zusammensetzenden Teilchen frei zwischen- und nebeneinander verschieben können; je leichter dies möglich ist, desto geringer ist die Viscosität der Lösung. Ist im Wasser ein Stoff mit kleinen Molekülen gelöst, so wird derselbe, selbst wenn er sich in solcher Konzentration vorfindet, daß kein ungebundenes Wasser übrig bleibt, dennoch die Viscosität der Lösung nur wenig beeinflussen (Salze usw.), weil eben auch die mit Wasser verbundenen Moleküle wegen der Kleinheit dieser Gruppen frei verschieblich sind. Wenn aber größere Moleküle gelöst sind, nimmt die Verschieblichkeit derselben rasch ab, sobald nicht mehr viel freies (resp. locker gebundenes) Wasser zwischen den gelösten Teilchen als „Medium“ (Gleitmittel) vorhanden ist. Wenn daher die Konzentration des Stoffes so weit geht, daß alles Wasser fester gebunden ist und die Teilchengröße eine gewisse Grenze erreicht, wird die innere Reibung so groß, daß die freie Beweglichkeit der Teilchen ganz aufhört und die Masse aus dem flüssigen in den (halb)festen Zustand einer Gallerte übergeht. F ü r d i e A u s b i l d u n g e i n e r G a l l e r t e i s t e s s o m i t n o t w e n d i g, d a ß e i n S t o f f a u s g r o ß e n, s c h w e r b e w e g l i c h e n M o l e k ü l e n v o n s t a r k e m W a s s e r b i n d u n g s v e r m ö g e n s i c h z u s a m m e n s e t z e.

Wir wählen, um diese Beziehungen möglichst anschaulich zu machen, den bekanntesten Vertreter dieser Stoffe, die Gelatine, deren chemische Zusammensetzung wir schon oben näher kennen gelernt haben. Wird feste Gelatine in Wasser gebracht, so nimmt sie davon unter Quellung etwas auf; doch geht diese Wasserbindung in der Kälte nur bis zu einer gewissen Grenze, da das Wasser nur zum kleinen Teil zwischen die zu größeren Komplexen verklebten Moleküle eindringen kann. Erwärmen wir feste Gelatine mit Wasser, so wird durch die lebhaften Molekularbewegungen einerseits die Verbindung der Polypeptide mit Wasser erleichtert (die Gelatine wird „löslicher“), anderer-

seits ein Zerfall der Komplexe in Moleküle oder doch kleinere Molekulargruppen bewirkt, die nunmehr untereinander verschieblich werden: die Gelatine ist flüssig geworden. Durch weiteren Wasserzusatz kann die innere Reibung der Teilchen noch mehr herabgesetzt und die molekulare Aufteilung der Komplexe so weit getrieben werden, daß die kolloiden Eigenschaften zurücktreten. Eine solche Lösung (bis über 99 % Wasser) besteht aus Teilchen, die untereinander mit einer nach dem Wassergehalt und der Aufteilung der Komplexe wechselnden Viscosität verschieblich sind und die alles Wasser an ihre Oberfläche gebunden haben. Daß letzteres der Fall ist, zeigt sich sofort beim Abkühlen. Wenn die Bewegung der Teilchen mit sinkender Temperatur abnimmt, überwiegt deren Neigung, sich zu Komplexen zusammenzulegen. Damit ist aber jenes Moment, das den flüssigen Zustand ermöglicht hatte, nämlich die Kleinheit der Teilchen aufgehoben, die großen Komplexe können sich nicht mehr aneinander vorbei bewegen und ergeben daher die bekannte halbfeste Konsistenz der erstarrten Gelatine. Bei Wiedererwärmen tritt schnell wieder die Trennung der Molekülvereinigungen und damit wieder die flüssige Beschaffenheit ein.

Unserer Ansicht nach ist die fest gewordene Gelatine somit eine homogene Masse von untereinander verklebten, mit reichlich gebundenem Wasser versehenen Molekülen, wie dies ja auch durch die ultramikroskopischen und anderen Untersuchungen verschiedener Autoren (Katz, Menz u. a.) gegenüber der älteren Vorstellung einer wabigen Struktur (Bütschli) wahrscheinlich wurde[1]. Dasselbe gilt für alle echten Gallerten (z. B. auch für den Agar). Für diese Auffassung scheint uns vor allem die Tatsache zu sprechen, daß es durch bloße mechanische Momente nicht oder doch nur in ganz untergeordnetem Maße gelingt, das Wasser wieder von den Gallerten zu trennen[2]. Alle echten Gallerten halten ihr Wasser vielmehr sehr fest, so

---

[1]) Die noch älteren Vorstellungen, wie die von Nägeli 1858 entwickelte Mizellentheorie, sind rein physikalische Betrachtungen, die mit unseren Begriffen wohl nur sehr entfernte Ähnlichkeiten aufweisen.

[2]) Wir sehen natürlich von jenen Fällen unvollständig erstarrender Gelatine ab, wo infolge zu hohen Wassergehaltes ungebundenes Wasser in größerer Menge vorhanden ist; dieses kann natürlich abzentrifugiert werden.

daß es nur ganz langsam durch Verdunsten oder durch stark Wasser entziehende Agenzien (Fällung flüssiger Gelatine mit Alkohol usw.) wieder abgetrennt werden kann. Die als „Synäresis" bezeichnete Erscheinung, daß viele namentlich stärker wasserhaltige Gallerten beim Stehen eine kleine Menge Wasser abpressen, ist kaum ein Beweis für das Bestehen einer zweiten flüssigen Phase zwischen einer festen, sie erklärt sich unserer Ansicht nach einfach dadurch, daß einzelne Wassermoleküle nur locker gebunden bleiben und daher bei der allmählich zunehmenden Annäherung der Teilchen (durch deren gegenseitige Anziehung, sowie unter dem Einfluß der Schwerkraft) losgerissen werden und von den oberflächlichen Partien nach außen gelangen. Eine besondere Bedeutung besitzt dieses Phänomen kaum, namentlich können wir manchen Forschern nicht zustimmen, die dasselbe als Erklärung gewisser biologischer Vorgänge, wie z. B. der Zellsekretion, heranziehen wollen.

Das Wasserbindungsvermögen der gallertfähigen Stoffe (Gelatine, Agar) ist zwar groß, aber dennoch begrenzt; wird ein bestimmtes Maß des Wassergehaltes überschritten, so kommt es zwar auch noch zur Aneinanderlagerung der Teilchen, zwischen den Komplexen bleibt aber ungebundenes Wasser, die Masse hängt daher nicht mehr im ganzen zusammen, sondern zeigt einzelne weiche Stücke und Linsen; bei noch größerem Wasserzusatz bleibt sie überhaupt flüssig.

Die Gelatinierung als eine Entmischung aufzufassen in dem Sinne, daß hierbei eine konzentrierte kolloide Phase mit relativ wenig Wasser und eine wäßrige Phase mit wenig Kolloid entsteht (Wo. Ostwald), scheint uns das Wesentliche dieses Vorganges nicht zu treffen. Denn wenn das Wasser an die Oberfläche der Gelatinemoleküle gebunden bleibt, wie wir aus den angeführten Gründen für sicher halten, so kann man nicht eigentlich von einer Entmischung sprechen. Die Analogie zur Entmischung gewisser Flüssigkeiten, die von Wo. Ostwald zur Begründung seiner Ansicht herangezogen wird, ist wohl nur eine äußerliche. Wir wollen, um diese Behauptung zu rechtfertigen, das von Ostwald angeführte Beispiel[1]) eines Phenol-Wassergemisches an Hand unserer Begriffe analysieren, wobei sich der ganze Vorgang folgendermaßen darstellt: Wasser und Phenol mischen sich in der Kälte nur ganz wenig, weil Phenol nur wenig Wasser bindet, und die Phenolmasse, selbst wenn wir sie durch Schütteln emulgieren, nur mit einer relativ kleinen Oberfläche mit dem Wasser in Berührung kommt. Erhitzen wir auf 70°, so

[1]) Die Welt der vernachlässigten Dimensionen. Dresden 1916.

werden die Phenolmoleküle durch die höhere Eigenbewegung sich mit Lebhaftigkeit zerteilen (das Phenol zerschmilzt gewissermaßen im Wasser), die Oberfläche, die es jetzt dem Wasser bietet, ist eine viel tausendmal größere, und alle Teilchen können sich jetzt mit Wasser verbinden. Da es sich aber um einen schwer löslichen Stoff handelt, wird jedes Molekül nur wenig Wassermoleküle an sich binden. Bei sinkender Temperatur beginnt daher bald wieder die Anziehung der Phenolmoleküle untereinander zu überwiegen, sie treten zu kleinsten Tröpfchen zusammen, die Lösung wird opalescent; einige Zeit bleibt diese kolloide Lösung stabil, weil ihre Teilchen immer noch viel mehr Wasser gebunden haben als die oben erwähnte, durch Schütteln in der Kälte erhaltene Emulsion. Die Wassersphären sind aber doch unzulängliche, die Vereinigung der Teilchen muß daher allmählich weiter fortschreiten und bis zu einer durch die gegenseitige Löslichkeit und durch die Temperatur bedingten Entmischung führen. Von Interesse ist nun die hohe Viscosität, die die Lösung während des ersten Stadiums der Entmischung (Opalescenz) aufweist (im Gegensatz zu den mehr oder weniger gelösten Stadien); sie erklärt sich wohl dadurch, daß zu dieser Zeit (bei gewissen für den Versuch notwendigen Mischungsverhältnissen!!) fast alles Wasser an die noch sehr fein disperse Phenolphase gebunden ist, und daher die einzelnen Phenoltröpfchen sich, weil nur wenig freies Wasser vorhanden ist, nur mit großer Reibung untereinander verschieben können. Je weiter die Entmischung fortschreitet, desto mehr Wasser wird frei, desto geringer muß daher die Viscosität werden usw.

Wir sind auf dieses Beispiel darum näher eingegangen, weil es auch sonst zur Veranschaulichung der im vorhergehenden entwickelten Begriffe über die Löslichkeit der Stoffe dienen kann. Vor allem aber, um zu zeigen, daß die Analogie zur Gelatinierung sich in einigen Einzelheiten (Auftreten eines Stadiums mit weitgehender Bindung des Wassers) erschöpft. Hier kommt es aber zur raschen Trennung von Wasser und Phenol, während die Gelatine ihr Wasser sehr fest und dauernd zurückhält; die Synäresis der Gelatine ist ja, wie schon oben besprochen wurde, keineswegs eine Abtrennung des Wassers, sondern bloß das Losgerissenwerden einzelner weniger Wasserteilchen (z. T. mit Gelatinemolekülen).

Das Wesentliche bei der Gallertenbildung ist somit das Auftreten großer Molekülkomplexe (bei niederer Temperatur) und das Fehlen freien Wassers infolge Bindung desselben an die gelösten Teilchen. Fehlt die eine oder die andere dieser Eigenschaften, so kommt keine Gelatinierung zustande; so z. B. in Saponinlösungen, wahrscheinlich weil hier trotz starkem Wasserbindungsvermögen keine genügend großen Komplexe zur Ausbildung kommen. Ähnlich viele Albuminosen, die ja mit Gelatine nahe verwandt sind;

manche von ihnen scheiden sich aus heißer Lösung beim Erkalten tatsächlich gallertig, die meisten aber als amorphe Pulver ab, zweifellos weil sie das Wasser nicht genügend an sich binden. Auch die Gelatine kann durch stärkere hydrolytische Aufspaltung der sie zusammensetzenden Polypeptide rasch (durch Erhitzen im Autoklav) in solche Körper übergeführt werden, die nicht mehr den Anforderungen der Gallertbildung entsprechen und daher nicht mehr erstarren.

Wie sehr die chemische Struktur eines Stoffes mit dessen Fähigkeit zur Gelatinierung verknüpft ist, zeigen u. a. die engen Beziehungen, die zwischen den in der Gelatine vorhandenen Salzen zu deren Erstarrungsvermögen bestehen. Es handelt sich hier mit größter Wahrscheinlichkeit um Salzverbindungen der Gelatinepeptide, von denen namentlich diejenigen mit Kalksalzen von Bedeutung sind. Werden die in der Gelatine stets in größerer Menge vorkommenden Kalksalze entfernt (z. B. durch Behandlung mit $NaHCO_3$, wobei das Ca als Ca-CO_3-trübung ausfällt), so wird die Gelatine nicht mehr fest; vermutlich ist die Eigenschaft der Teilchen, zu Komplexen zusammenzutreten, an die Gegenwart von Kalksalzen gebunden, s. u.[1]). Werden die Ca-Salze durch andere Salze ersetzt, so tritt dasselbe ein. Bringt man daher Klötzchen von 1% erstarrter Gelatine in Lösungen von J-, Rh-, Br-Salzen, so lösen sie sich darin auf; wird Gelatine in solchen Salzlösungen gelöst, so erstarrt sie nicht beim Erkalten, weil diese Salze die Ca-Salze aus ihren Verbindungen mit den Peptiden verdrängen. Wogegen die mehrwertigen Anionen, wie Sulfat, Citrat usw. die Gallertbildung nicht stören, ja sogar fördern, vermutlich da die dabei entstehenden Kalkverbindungen der Polypeptide weniger löslich sind[2]).

Alle echten Gallertbildner gehören unserer zweiten Gruppe an, d. h. sie sind lösliche Kolloide. Daher ist bei ihnen dieser Zustand auch stets leicht reversibel, mit der Temperatur können sie zwischem festen und flüssigem Zustand beliebig oft wechseln, von den schon oben erwähnten Einschränkungen (hydrolytische Aufspaltungen der Moleküle beim Erhitzen oder spontan) abgesehen.

Aber auch viele Vertreter der unlöslichen Kolloide (Gruppe III) können unter geeigneten Umständen gallertige Konsi-

---

[1]) Vielleicht kommt noch eine leicht hydrolytische Wirkung des Bicarbonates hinzu, wodurch die Gelatinemoleküle etwas aufgespalten werden.

[2]) Über Verbindungen der Gelatine mit Schwermetallsalzen und deren Eigenschaften s. S. 268.

stenz annehmen. Da sie sich aber auch in diesem Falle wesentlich von den soeben besprochenen, echten Gallerten unterscheiden, möchten wir sie als „unechte“ Gallerten hier gesondert besprechen.

Wenn wir Serum im Wasserbade auf 65 bis 70° erhitzen, so erstarrt es in wenigen Minuten zu einer gallertigen, durchsichtigen Masse. Durch die Erhitzung des schwach alkalischen Serums wurde eine hydrolytische Aufspaltung der an den Teilchen adsorbierten Abbauprodukte bewirkt, die zur Folge hatte, daß die Menge der wasserbindenden Stoffe zunimmt. Auch wurde ein Teil des Wassers zu dieser Hydrolyse direkt verbraucht. War schon vorher wegen der hohen Konzentration des Serums nur wenig locker gebundenes Wasser zugegen, so wurde dasselbe dadurch noch weiter reduziert; das Eiweiß trinkt gewissermaßen das Wasser in seine Oberfläche hinein. Die Viscosität nimmt daher rasch zu, und bald ist die Grenze, bei der eine freie Beweglichkeit der Teilchen möglich ist, durch den zunehmenden Wassermangel überschritten. Mit echten Gallerten hat dieser Zustand noch gemeinsam, daß er, wie aus dem soeben Gesagten leicht verständlich ist, nicht mehr eintritt, wenn wir durch Verdünnen des Serums die Wassermenge erhöhen. Ähnlich wie Gelatine mit über 99% Wasser nicht mehr ganz fest wird, bleibt dieses Erstarren des erhitzten Serums bei 2- bis 2½-facher Verdünnung (3 bis 4% Eiweiß) aus. Der Unterschied gegenüber echten Gallerten ist hingegen in der absoluten Irreversibilität dieses Zustandes ausgeprägt. Durch nachträglichen Wasserzusatz kann derselbe nicht mehr aufgehoben werden; erhitzt man noch ein wenig mehr, so erfolgt nicht nur keine Auflösung (wie bei Gelatine), sondern die vorherige Erstarrung verrät sich jetzt deutlich als eine beginnende (gewissermaßen gehemmte) Koagulation: das feste aber zuerst durchscheinende Serum wird jetzt (bei 70 bis 80°) rasch trüb und undurchsichtig. Dieses Verschwinden der ursprünglichen Transparenz erklärt sich durch die beginnende Koagulation, d. h. Trennung der an sich unlöslichen Eiweißteilchen von ihren Lösungsvermittlern und dadurch vom Wasser. Dies hat nämlich zur Folge, daß der Brechungsexponent derselben sich von jenem des Wassers, mit dem er vorher weitgehend übereingestimmt hatte, entfernt, wodurch eine Zerstreuung des Lichtes an den

einzelnen Teilchen, d. i. ein Undurchsichtigwerden der Lösung, bedingt ist.

Während das gallertig erstarrte Serum dauernd seine Konsistenz beibehält, preßt das stärker erhitzte nach kurzer Zeit etwas Flüssigkeit aus, die eine wäßrige Lösung von Eiweißabbauprodukten mit darin kolloid verteiltem Eiweiß ist. Die Koagulation war eben unter diesen Bedingungen keine vollständige, einzelne Eiweißteilchen bleiben noch in Lösung, wofür ja die hohe Konzentration der Abbauprodukte und die alkalische Reaktion des Serums günstig sind. Der Hauptteil des Wassers und der Abbauprodukte wird aber in dem engen Maschenwerk zwischen dem ausfallenden Eiweiß eingeschlossen. Der ganze Vorgang (das Auspressen des „Kondenswassers") hat mit der Synäresis der echten Gallerten zwar große Ähnlichkeit, ist davon aber, wie wir sehen, doch weitgehend verschieden.

Wenn man Serum vor dem Erhitzen neutralisiert, so tritt seine Erstarrung zwar noch schneller ein als im nativen, schwach alkalischen Zustande; es nimmt dann aber überhaupt nicht mehr Gallertenform an, sondern wird von vornherein trüb, spröde, beim Schütteln leicht in einzelne Stücke zerbrechend. Die ihrer (für die Wasserbindung hauptsächlich in Betracht kommenden) Alkaligruppen beraubten Eiweißteilchen verkleben schon so schnell zu größeren wasserarmen Komplexen, daß die auf totaler Wasserbindung beruhende Gelatinierung nicht eintreten kann und sofort die beschriebene Koagulation einsetzt. In schwach saurem oder alkalischem Serum wird infolge der besseren Wasserbindung die Koagulation hinausgeschoben [s. Protokoll[1])], und die gallertige Erstarrung kommt sehr deutlich zur Ausbildung. Erst ein größerer Gehalt an Alkali (auch ohne Wasserzugabe) verhindert sowohl Gelatinierung wie Koagulation (selbst bei 100°), weil die Abbauprodukte nunmehr so energisch aufgespalten werden, daß genügend kleinmolekulare, d. h. frei bewegliche Bruchstücke vorhanden sind, um eine dauernde Verschieblichkeit aller Teilchen zu gestatten. Säure in kon-

[1]) Z. B. Rinderserum je 1,0 ohne Zusatz: bleibt bei 62° unverändert, bei 71° in 14′ gallertig, durchsichtig; mit 4 Tropfen $^{n}/_{5}$-HCl: bei 62° nach 25′ etwas trüb, bei 71° in 5′ fest, etwas durchscheinend; mit 6 Tropfen $^{n}/_{5}$-HCl nach 25′ bei 62° halbfest, trüb; mit 8 Tropfen HCl in 8′ bei 62° erstarrt, trüb; mit 10 Tropfen HCl nach 5′ gelatinös, stark durchscheinend; mit 12 Tropfen nach 50′ halbfest, durchscheinend-gelatinös; mit 1 Tropfen $^{n}/_{5}$-Lauge bei 72° in 10′ gelatinös, 2 Tropfen in 20′ gelatinös, 3 Tropfen in 50′ halbfest.

zentrierter Form zugesetzt gestattet dagegen noch die Erstarrung, von einer gewissen Menge an wirkt sie freilich schon direkt fällend (weil wasserentziehend, ähnlich wie konz. Salzlösungen), während Alkali gegen Eiweiß nie wasserentziehend, sondern immer nur wie (stark dissoziiertes) Wasser wirkt.

Für das hohe Wasserbindungsvermögen der gallertfähigen Stoffe spricht ihre Quellbarkeit, d. h. die aktive Aufnahme von Wasser schon in der Kälte. Hingegen halten wir das Vorhandensein von Strukturen für das Zustandekommen einer Quellung (und noch mehr einer Gallerte) für unnötig. Daß die Teilchen, wie wir annehmen, zu Komplexen verklebt sind, kann ja nicht als eine „Struktur" aufgefaßt werden, da dieser Begriff doch eine Dishomogenität bedeutet, während die Komplexbildung gleichmäßig die ganze Masse betrifft. Daß Gelatine beim Eintrocknen eine gewisse Schichtung und Wechsel von stärker und schwächer wasserhaltigen Zonen usw. aufweisen kann, geben wir gerne zu, doch haben derartige Ungleichheiten unserer Ansicht nach nichts mit dem Quellungsvermögen zu tun. Die sog. Liesegangschen Ringe halten wir für nicht durch eine Struktur der Gelatine bedingt, wie zur Genüge der Umstand beweist, daß sie jeweils um den willkürlich gewählten Ausgangspunkt der fällenden Lösung sich anordnen. Vielmehr dürften sie dadurch zustande kommen, daß in der z. B. mit Chromsalz imprägnierten Gelatine durch das Silbersalz eine erste Fällung entsteht, wobei alles in der nächsten Umgebung befindliche Chromsalz angezogen und ausgefällt wird. Dadurch wird vorübergehend eine Zone geschaffen, die arm an Chromsalz ist; in dieser wandern nun von beiden Seiten her die beiden Salze sich entgegen. Wo sie in größerer Konzentration aufeinandertreffen, entsteht der nächste Ring usw. Die Versuchsbedingungen, spez. die Konzentration der Salze muß hierbei natürlich geeignet gewählt sein, um das Auftreten salzarmer Zonen zu ermöglichen.

Die Versuche von Bütschli, Hardy u. a., die bei Behandlung von Gelatinegallerten mit Fällungsmitteln wie Alkohol, Sublimat netzige oder wabige Strukturen erhielten, dürften sich nach dem vorhergehenden kaum als besondere Probleme darstellen. Gelatine in 50 % Alkohol zeigt beim Abkühlen tröpfchenförmige Ausscheidungen, die sichtbar gewordene Komplexbildung ihrer Teilchen; diese können jetzt nicht alles Wasser wie sonst an sich binden und dadurch in toto erstarren, weil der Alkohol einen Teil des Wassers für sich festhält und mit diesem als „Milieu" bestehen bleibt. Ist mehr Gelatine zugegen, so erstarrt die ganze Masse, der Alkohol, der aber nicht an die Gelatine gebunden werden kann, muß nun dazwischen mit einem Teil des Wassers in Tröpfchenform sich ausscheiden. Sublimat macht in der Kälte unlösliche (wenig

oder kein Wasser mehr bindende) Salzverbindungen und führt so zu den weißen, netzig-fetzigen, in der Hitze wieder glatt löslichen Ausscheidungen usw. Diese und viele ähnliche Beobachtungen scheinen uns keine besonderen Entmischungstheorien mit verschiedener Phasenbildung zu verlangen, sondern erklären sich einfach aus den Löslichkeitsgesetzen der betreffenden Kolloide; am wenigsten können sie aber als Beweise einer schon vor den gewählten Zusätzen bestehenden Struktur derselben gelten.

Wir können hier auf alle Veränderungen, die in Eiweißlösungen (spez. Blutserum) durch die Erhitzung eintreten, nicht eingehen, möchten aber eine Erscheinung kurz besprechen, die auf die in dieser Mitteilung behandelten Fragen weiteres Licht wirft, nämlich die bekannte Globulinvermehrung, die in erhitzten Seren (56 bis 65°) beobachtet wird. Sie äußert sich darin, daß so behandelte Seren, wenn aus ihnen durch Neutralsalze oder $^{n}/_{300}$-HCl die Globuline dargestellt werden, einen größeren Niederschlag liefern als im unerhitzten Zustande. Die größere Empfindlichkeit gegen wasserentziehende Agentien (Ammonsulfat, Alkohol) ist z. T. durch die Verarmung des Serums an freiem Wasser durch die Erhitzung bedingt (s. o.); doch spielt dieses Moment nur eine untergeordnete Rolle[1]). Wesentlich ist vielmehr der Umstand, daß während der Erhitzung eine Aufspaltung der Eiweißoberflächen erfolgt, die Teilchen werden dadurch ärmer, speziell an den mittleren Abbauprodukten, wogegen sich niedere Spaltstücke in vermehrter Menge ansammeln. Diese haften aber nur viel lockerer an den Oberflächen und werden, wenn wir wasserentziehende Mittel einwirken lassen, mit dem Wasser weggenommen, wie sich durch quantitative Bestimmung der mit Ninhydrin reagierenden Stoffe in den Abgüssen feststellen ließ. Dadurch wurden aber die Teilchen an Löslichkeitsvermittlern ärmer und deshalb gegen Wasserentziehung um so empfindlicher. Dasselbe gilt bei Neutralisation mit $^{n}/_{300}$-HCl, auch hierbei gehen die niederen Bausteine vermehrt in die Lösung; der die Löslichkeit herabsetzende Effekt der Neutralisation bewirkt deshalb schon für eine viel größere Zahl von Teilchen, daß sie nicht mehr genügend stabil sind. Von den auf Komplexbildung von vielen Teilchen beruhenden eigentlichen Globulinen (s. u.) sind diese Teilchen (für die der Ausdruck „Pseudoglobuline“ viel besser am Platze wäre als für die jetzt damit bezeichneten Eiweißpartikelchen) dagegen verschieden. Diese werden durch Erhitzen rasch zerstört (aufgeteilt), worauf das Verschwinden der durch bloßen Wasserzusatz in Blutseren ausflockenden Eiweißteilchen, ferner des Komplementmittelstückes, über 60° sogar der Immunkörper usw. den Beweis gibt.

---

[1]) Auch gegenüber $^{n}/_{300}$-HCl tritt eine Verschiebung ein, doch im Sinne einer geringeren Empfindlichkeit, da erhitzte Seren stärker alkalisch sind und daher mehr Säure bis zur maximalen Ausflockung verbrauchen.

Ein anderer Vorgang, der zu einer gallertigen Form von Eiweiß führt, ist folgender: Wenn man Eiweißpulver in starkes Alkali oder Säure einbringt, quillt es bei geeigneter Menge zu einer durchsichtigen, festen Gallerte, die auch in der Wärme bei mäßigem Wasserzusatz noch bestehen bleibt. Die einsetzende Aufspaltung bedingt eine starke Wasserbindung seitens der Oberflächen der Pulverteilchen und dadurch ein Verschwinden des vorher freien Wassers.

Zu den unechten Gallerten gehören ferner die eigentlichen Gerinnungen, von denen die Blut-(oder Fibrin-)gerinnung sowie die Milch-(oder Lab-)gerinnung die bekanntesten Beispiele sind und hier näher besprochen werden müssen. Der hierbei erreichte Zustand ähnelt gelegentlich sehr einer Gallerte, doch gestattet eine etwas eingehendere Analyse leicht, die ganz wesentlichen Unterschiede aufzudecken, die auch diese Pseudogallerten von den echten trennen.

Wir haben uns schon in früheren Arbeiten eingehender namentlich mit der Blutgerinnung beschäftigt und einige Probleme derselben aufklären können[1]). Hier dürfte aber der Ort sein, noch tiefer in das Verständnis dieser und verwandter Vorgänge einzudringen und besonders die Frage, wodurch die Fibrinausfällung besonders charakterisiert ist, zu erörtern. Wir gehen darauf um so lieber ein, als wir dadurch Gelegenheit finden, eine allgemein gültige Gesetzmäßigkeit an Hand einiger anschaulicher Beispiele darzulegen. Diese betrifft die Ausfällung von Eiweiß überhaupt, wovon wir zwar schon einige Typen kurz kennen gelernt, aber noch nicht alle näher analysiert haben.

Jede Koagulation ist nichts anderes als ein Verkleben der vorher kolloid verteilten Eiweißteilchen zu gröberen Partikelchen, beruht somit auf einer Herabsetzung ihres Dispersitätsgrades. Die meisten Eiweißlösungen (z. B. Serum oder andere Körpersäfte, Organpreßsäfte usw.) sind so beschaffen, daß sich darin feiner und gröber disperse Teilchen vermengt vorfinden. Die gröberen sind in der Regel komplexe, d. h. mehr weniger lockere Vereinigungen der hochdispersen, in die sie gelegentlich zerfallen können. Da die kleinen Teilchen eine im Vergleich

---

[1]) s. 71, 75, 82.

zu ihrer Masse größere Oberfläche besitzen, sind sie in der Regel stabiler, d. h. besser durch ihre Löslichkeitsvermittler vor gegenseitiger Verklebung geschützt als die gröber dispersen; sie neigen daher weniger zu Ausflockungen. Verschiedene Eingriffe können sie aber gleichwohl untereinander zu größeren Partikelchen vereinigen, so z. B. wenn wir eine „Albumin"-fraktion des Serums mit Alkohol fällen und sofort wieder auflösen. Wir erhalten dann infolge Wegnahme eines Teiles der Abbauprodukte eine Lösung, die jetzt gröber dispers ist als vor der Fällung, weil sie eben aus den zu kleinen (aber noch ultramikroskopischen) Gruppen verklebten Albuminteilchen besteht. Solche gröber disperse Teilchen kommen nun normalerweise in fast jeder Eiweißlösung vor, ja sie sind sogar in der Regel das Ursprünglichere; denn da alles Eiweiß im Innern von Zellen entsteht und Eiweißlösungen erst durch Zerfall von Zellen zustande kommen, so entstehen zunächst meist gröbere Teilchen, die erst durch autolytische Aufspaltung die feiner dispersen Bestandteile der Lösung liefern[1]).

Die größeren Teilchen sind hinsichtlich ihrer Stabilität weniger günstig gestellt als die kleineren und daher im allgemeinen leichter zu weiterem Verkleben (Ausflockung) geneigt. Dies gilt namentlich für den Fall, wenn dieselben abgetrennt vorkommen, wenn wir sie also isolieren und für sich allein wieder zur kolloiden Verteilung bringen. Hier kommt es oft schon beim bloßen Stehen zur Flockenbildung, z. B. reine Fibrinogenlösungen mit nur mäßigem ($^1/_2$ bis $1\,^0/_0$) Salzgehalt. Bringen wir eine solche gröber disperse Lösung (z. B. eine schwach opalescente „Globulin"lösung) mit höher dispersen Teilchen (z. B. mit „Albumin"fraktion) zusammen, so adsorbieren die gröberen Teilchen die feineren und können durch diese resp. deren Lösungsvermittler selbst weiter aufgeteilt werden; die Lösung wird fast momentan ganz klar, indem die Besetzung der Globulinoberflächen mit gut löslichen Stoffen die vorher bestandenen Unterschiede im Brechungsindex aufhebt. Ganz gleich, nur noch weit stärker wirkt bekanntlich Alkali, womit wir selbst gröbere Eiweißniederschläge stets leicht, häufig nahezu momentan in fein kolloide Lö-

[1]) s. unsere Mitt. **83**, 228.

sung überführen können; dies geschieht durch Bildung von Alkalisalzen und hydrolytische Spaltung der Abbauprodukte, wodurch das Wasserverbindungsvermögen der verklebten Teilchen sehr rasch gesteigert wird und die Komplexe daher in kleinere Elemente auseinanderfallen. Bringen wir dagegen umgekehrt gröber disperse Teilchen nicht mit feiner, sondern mit gleichfalls grob dispersen anderen zusammen, so können dieselben, falls sie sich gegenseitig adsorbieren, leicht zu einer noch weiteren Vergröberung und damit zur Ausflockung führen (z. B. Bakterienemulsion + Agglutinin-Globulinteilchen). Wir sehen, daß sich in jeder Eiweißlösung somit ein gewisses Gleichgewicht zwischen gröber und feiner dispersen Teilchen herzustellen sucht, wobei freilich ein wirklicher Ausgleich aller Unterschiede nur in längerer Zeit sich selbst überlassenen (autolysierenden) Lösungen eintreten dürfte, wogegen in einer fortwährendem Wechsel unterworfenen Lösung, wie sie die zirkulierenden Körpersäfte vorstellen, nur eine gewisse gegenseitige Regulierung erreicht zu werden pflegt. Diese kommt z. B. im Blute darin zum Ausdruck, daß die Stufenreihe der Plasmakolloide bald mehr nach rechts, bald mehr nach links verschoben ist (Fibrinogenschwankungen, Verschwinden des Fibrinogens bei Überladung des Blutes mit hochdispersen Teilchen bei Phosphorvergiftung und ähnlichem).

Wichtig für die allgemeine Vorstellung, die wir von den Eiweißlösungen haben, ist jedenfalls die aus obigem hervorgehende Tatsache, daß ebenso wie die leicht löslichen Abbauprodukte die schwer löslichen und diese die unlöslichen Eiweißteilchen peptisieren, ebenso wieder die hochdispersen Eiweißpartikelchen, indem sie an niedriger disperse adsorbiert werden, deren Stabilität erhöhen, diese somit gewissermaßen peptisieren und als ihre Lösungsvermittler dienen[1]).

Betrachten wir nun Eiweißteilchen von verschiedenem

---

[1]) In die oben erwähnte Stufenreihe gehören auch die peptischen „Fermente" der Eiweißkörper, deren Wirksamkeit aus dem hier und in früheren Arbeiten Gesagten verständlich sein dürfte. Wir möchten dies besonders im Hinblick auf die Einwände betonen, die von Biedermann in der Zeitschr. f. Fermentforschung Jahrg. 2, Nr. 1, S. 1 bis 57 gegen uns vorgebracht wurden.

Dispersitätsgrad, so sehen wir, wie tatsächlich ihre ungleiche Stabilität (Neigung zum Verkleben) in einer wechselnden Fällbarkeit zum Ausdruck kommt. Die feinstverteilten (stabilsten) Partikelchen (etwa „Albumine"), die schon den nicht mehr koagulierbaren, in der Hitze vermehrt löslichen Albuminosen nahestehen, benötigen, um auszufallen, der bekannten energischen Eiweißfällungsmittel (Schwermetallsalze, absoluter Alkohol usw.), die die Wasserbindung ihrer Oberflächen radikal aufheben. Diese Fällungen sind in der Regel irreversibel, weil wir, um die Teilchen zum Verkleben zu bringen, ihre Abbauprodukte entweder wegnehmen oder tiefgreifend verändern mußten. Nur die (kurze) Behandlung mit Alkohol in der Kälte sowie die Fällung mit konzentrierten Neutralsalzlösungen, Säuren usw., gestatten meist noch eine Wiederauflösung, weil sie bloß das Wasser wegnehmen und die Abbauprodukte der Oberflächen noch zum größten Teil intakt lassen. Bei längerer Einwirkung von Alkohol (namentlich in der Hitze) werden sie dagegen bereits unlöslich (durch Weglösen der Löslichkeitsvermittler).

Leichter gelingt die Fällung bei den gröber dispersen Teilchen, die wohl hauptsächlich deswegen als „Globuline" den feiner dispersen „Albuminen" gegenübergestellt wurden. Sie fallen nicht nur durch wasserentziehende Mittel, wie Neutralsalze usw., schneller aus, ja schon durch bloße Salzentziehung (Verdünnen mit Wasser, Dialyse) oder Absättigung ihrer Alkaligruppen, worauf die bekannten Darstellungsmethoden beruhen, sondern sie können unter Umständen ganz ohne Veränderung ihrer Oberflächen ausflocken, wofern sich nur ein geeignetes Klebmittel vorfindet, das die Teilchen zu Komplexen vereinigt. Das interessanteste Beispiel sind hierfür die Immunkörperfällungen, auf deren Wesen wir hier kurz zurückkommen (ausführlicher s. unsere Mitt. II), weil sie uns die Fibringerinnung besser verständlich machen kann.

Die Immunkörper (Antikörper) sind gröber disperse Eiweißteilchen, die wie andere Globuline im Serum stabil sind, solange sie nicht mit dem Antigen zusammentreffen. Geschieht letzteres, so findet eine energische, auf chemischen Affinitäten beruhende Adsorption statt, derzufolge die Antikörperteilchen sich um die Antigenteilchen gruppieren und durch diese zu

größerem Komplex verklebt werden. So entstehen gröber disperse Partikelchen, die nebeneinander nicht mehr stabil sind, sondern sich weiter zusammenlegen und als sichtbare (oder auch ultramikroskopisch bleibende) Fällungen nachweisbar sind. Wir sehen an diesem Beispiel, daß es bei geeigneter Teilchengröße — Albumine geben die Immunfällungsreaktionen meist nicht mehr — genügt, daß die Teilchen untereinander verklebt werden, um sie als unlösliches (koaguliertes) Eiweiß zur Abscheidung zu bringen. In der Tat ist das erhaltene Präcipitat (z. B. aus Kaninchen-Anti-Rinderserum + Rinderserum) nicht leicht wieder kolloid verteilbar, da es durch bloßes Schütteln in physiologischer, selbst höher konzentrierter Salzlösung nicht gelingt, die Flocken wieder zu verteilen. Energischer aufteilende Eingriffe, wie Erhitzen der gewaschenen Präzipitat-Emulsion oder Zusatz von wenig Lauge gestatten dagegen rasch eine neuerliche kolloide Lösung zu erzielen. Im Gegensatz hierzu sind die gewöhnlichen Globulinfällungen leicht schon durch bloßen Wasser- resp. Salzzusatz reversibel (wenn auch nicht immer bis zu dem vorherigen Dispersitätsgrad), weil die Teilchen nur ganz locker verklebt sind und mit dem Wasser- resp. Salzzusatz die Ursache ihrer Unlöslichkeit aufgehoben ist.

Einen Schritt weiter in der Größe der Teilchen bedeuten nun jene Eiweißpartikelchen, die als Fibrinogen die Blut-, als Casein die Milchgerinnung herbeiführen. Da sie noch gröber sind als die Globuline, sind sie noch leichter zur Ausfällung zu bringen, was gegenüber Hitze und den meisten Globulinfällungsmitteln bemerkbar ist[1]). Hiervon abgesehen, unterscheiden sich aber die auf diese Weise erhaltenen Fällungen nicht wesentlich von anderen Eiweißfällungen. Es erhebt sich daher die Frage, wieso die so charakteristischen, auch vom Laien leicht von einer gewöhnlichen Fällung unterscheidbaren Gerinnungen zustande kommen, die diese Körper vor anderen auszeichnen.

Wir beginnen unsere Analyse mit der Frage: Was gerinnt und wie verläuft die Gerinnung? Als Objekt wählen wir am besten eine sog. reine Fibrinogenlösung, wie sie nach den

---

[1]) Bei Versetzen mit $^{n}/_{300}$-HCl enthält man allerdings zuerst eine fibrinogenfreie Fraktion.

üblichen Verfahren erhalten wird. Nach mehrmaligem Umfällen in 1 % NaCl-Lösung aufgelöstes Fibrinogen ist eine kolloide Lösung, die bisher als einheitlich angesehen wurde. Bringt man sie aber durch Thrombinzusatz (einige Tropfen einer aus verdünntem Serum hergestellten Thrombinlösung) zur Gerinnung und preßt das Gerinnsel von der Flüssigkeit ab, so zeigt sich, daß das so erhaltene „Serum" deutlich mehr Eiweiß enthält als dem zugefügten Thrombin entspricht. Dieses Eiweiß ist aber kein Fibrinogen, da die Lösung (auch mit mehr Thrombin) nicht mehr gerinnt, somit alles Fibrinogen schon durch die Gerinnung entfernt worden ist. Daraus folgt, daß die gereinigte Fibrinogenlösung noch andere Eiweißkörper enthalten muß, die bei der Trennung von Fibrin und Flüssigkeit in die letztere übergehen. Eine wirkliche Scheidung von Fibrin und den anderen Bluteiweißkörpern findet somit bei der üblichen Art der Reindarstellung gar nicht statt, sie wird vielmehr erst beim Auspressen des Fibrinkoagulums erreicht; das hierbei erhaltene reine Fibrin ist aber ein nahezu ganz unlöslicher Körper.

In diesem Zusammenhang sei ferner die Tatsache erwähnt, daß wir Rinder-Fibrinogenlösungen nicht unbegrenzt „reinigen" können, sondern bei den wiederholten Umfällungen bald an eine Grenze kommen, wo das Fibrinogen sich nur noch unvollkommen löst[1]). Die erste (direkt aus dem Plasma erhaltene) Fällung ist noch reich an mitausgefallenen, höher dispersen Teilchen mit deren Löslichkeitsvermittlern und löst sich daher leicht auf. Bei jeder weiteren Umfällung bleibt ein Teil dieser Begleiter im Abguß, das Fibrinogen verarmt daher an Stoffen, die seine kolloide Verteilung ermöglichen. Nur solange, als noch andere, in Salzlösungen gut lösliche Teilchen mit und zwischen den Fibrinogenteilchen ausfallen, und dadurch, daß sie sich hinterher wieder lösen, die feiner disperse Aufteilung des Fibrinogens bewirken, gelingt es, den Zentrifugenbodensatz in eine „Fibrinogenlösung" überzuführen. Wir sehen somit auch an dieser Beobachtung, daß Fibrinogenlösungen gar nicht als chemische (resp. physikalische) Individualitäten gelten können,

[1]) Für das Fibrinogen vieler anderer Tierarten wie Pferd, Schwein, auch des Menschen gilt dies allerdings nicht, dasselbe bleibt auch nach beliebig oft wiederholter Umfällung in 1 % Salz löslich.

sondern Gemische aus Fibrinogen mit anderen, namentlich den Globulinen angehörigen Partikelchen sind. In der Tat beruhen alle Fibrinogendarstellungsverfahren darauf, daß das Fibrin stets mit kleinen Mengen anderer, leichter löslicher Eiweißkörper gefällt wird; wenn wir dagegen so ausfällen, daß keine anderen Teilchen mitkommen (oder daß die mitgerissenen Teilchen auch selbst unlöslich werden), erhalten wir nur ein unlösliches Fibringerinnsel, das nicht mehr kolloid verteilbar und daher zu einer Gerinnung nicht mehr fähig ist. Wir kommen daher zu der Vorstellung, daß das Fibrinogen, d. h. kolloid verteilte Fibrin aus großen Eiweißpartikelchen bestehen muß, deren kolloide Verteilung durch Adsorption und Beimischung anderer, besser löslicher Kolloide ermöglicht ist. In dieser Form findet sich das Fibrin in den sog. reinen Fibrinogenlösungen und ebenso auch in den nativen Blutplasmen usw.

Nach dieser Feststellung sei der Gerinnungsvorgang selbst etwas näher betrachtet. Wir haben an anderer Stelle gezeigt, daß das die normale Gerinnung bewirkende Agens, das Thrombin, die Ca-Salzverbindungen gewisser Polypeptide sind, die in der Blutflüssigkeit unter den bekannten Bedingungen auftreten; sie kommen daselbst vermutlich nicht frei vor, sondern adsorbiert an Kolloide (wahrscheinlich an jene Eiweißteilchen, auf deren Oberflächen sie durch Proteolyse entstanden sind). Verfolgen wir nun den Verlauf der Gerinnung, wie sie sich nach Zusatz einer solchen Thrombinlösung zu einer Fibrinogenlösung oder zu Zitratplasma abspielt, so fällt auf, daß auch starke Thrombinlösungen zunächst keine Veränderung hervorrufen. $^1/_2$ bis 1 Minute ist nichts an der Lösung zu sehen; es besteht somit ein deutlicher Gegensatz zu den eigentlichen Eiweißfällungen, bei denen schon wenige Sekunden, nachdem das Reagens mit der Lösung vermischt ist, die ausfallenden Teilchen bereits vollständig vom Wasser getrennt sind. Schon dadurch charakterisiert sich die Gerinnung als auf einem Adsorptionsvorgang beruhend, ganz analog den ebenfalls durch Adsorption bedingten und ähnlich verlaufenden Immunitätsreaktionen. Erst gegen Ende der ersten Minute beginnt das vorher ganz klare Medium sich leicht opalescent zu trüben, und während diese Opalescenz allmählich weitere Grade erreicht, erstarrt

der Inhalt des Röhrchens zu einer gallertigen Masse, die (in mäßig konzentrierten Lösungen) in der Regel durchsichtig oder doch stark durchscheinend bleibt[1]). Dieser Umstand ist für die Auffassung des ganzen Vorganges von großer Bedeutung. Denn er beweist uns, daß das Fibrin, obwohl es bereits zu festen Verbänden vereinigt ist (wie die eingetretene Erstarrung erkennen läßt), noch nicht eigentlich vom Wasser der Lösung sich abgetrennt hat, sondern noch denselben Brechungsexponenten besitzt. Das Undurchsichtigwerden der gewöhnlichen Fällungen geht ja auf dieses Moment zurück, es zeigt uns an, daß die Oberflächen der Teilchen ihre Beziehungen zum Lösungsmittel verloren haben. Hier aber, bei der Gerinnung, müssen wir schließen, daß diese radikale Trennung wenigstens zunächst und in verdünnten Lösungen nicht erfolgt; dies kann nur so erklärt werden, daß die an sich nahezu unlöslichen Fibrinteilchen die an ihrer Oberfläche adsorbierten (peptisierenden) Kolloide noch festhalten und so noch indirekt mit der Lösung zusammenhängen. Gerade dieses Moment dürfte für den besonderen Charakter dieser Fällung ausschlaggebend sein. Es ermöglicht, daß das an Masse so unbedeutende Fibrin (noch 0,2 bis 0,5 $^0/_{00}$ige Lösungen können in toto erstarren) eine Wassermenge fest einschließen kann, die es um ein Tausendfaches übertrifft. Diese Flüssigkeit ist zwar zum größten Teil mechanisch zwischen den so überaus feinen Maschen des Fibrinnetzes eingeschlossen, also in der Hauptsache ganz anders gebunden als in einer Gelatine. Daß aber das Wasser in dem Fibrinnetz gehalten wird und nicht eine schnelle Trennung desselben von der Lösung eintritt, ist in erster Linie dieser Besetzung der Fibrinoberflächen mit noch wasserbindenden Kolloiden zuzuschreiben.

Der Zusammenhang zwischen diesen locker adsorbierten Teilchen und dem Fibrin ist nun aber ein weit loserer als

---

[1]) Konzentrierte Fibrinogenlösungen, z. B. unverdünntes Plasma, werden bei der Gerinnung rasch undurchsichtig trüb; es entstehen eben viel dichtere und massigere Fibrinfäden; das Verhältnis des unlöslichen Teils zur löslichen Oberfläche ist viel ungünstiger. Bei Fibrinogenlösungen kann man die Durchsichtigkeit durch Zusatz von Serum erhöhen usw. Wir können auf viele hierher gehörige Beobachtungen aus Raummangel hier nicht eingehen.

jener der Fibrinpartikelchen untereinander. Sobald wir daher durch mechanische Einwirkung eine Trennung dieser Zusammenhänge anstreben, erfolgt der Riß nicht zwischen ihnen, sondern zwischen ihrer Oberflächenbekleidung und den Fibrinteilchen: jetzt wird das Fibrin (beim Pressen der erstarrten Masse zwischen einer Pinzette) sofort sichtbar, opak, das in sein Netzwerk eingeschlossene Wasser wird ausgepreßt und nimmt alle wasserlöslichen Kolloide und darunter auch den früheren Oberflächenbelag mit, die wir dann im „Serum" wieder antreffen.

Die Vereinigung der Fibrinteilchen zu Fäden und Netzen ist die Folge der Adsorption des Thrombins; es ist anzunehmen, daß die Ca-Salzpolypeptide von verschiedenen Fibrinpartikelchen gleichzeitig adsorbiert werden und diese dadurch untereinander verkleben. Da das Thrombin selbst (resp. die Kolloide, an denen es adsorbiert vorkommt) noch wasserlöslich ist, so wird auch dadurch die Wasserbindung der Komplexe zunächst nicht vermindert, wohl aber wird bei der Trennung des Fibrins von der Flüssigkeit (Auspressen des Serums) ein großer Teil des am Fibrin adsorbierten Thrombins abgelöst und findet sich nun (mit anderen Kolloiden) in der Lösung[1]). Die Verklebung der Fibrinteilchen ist zuerst eine noch lockere, erst allmählich wird sie durch die gegenseitige Anziehung und Annäherung der Teilchen eine festere. Defibriniert man daher früher als dies eingetreten ist, so werden auch einzelne Fibrinteilchen mit dem Serum mitgerissen; dieses enthält dann noch etwas kolloides Fibrin, und da auch das Thrombin stets zum guten Teil in die Lösung übergeht, so kommt es zu den jedem Gerinnungsphysiologen bekannten Nachgerinnungen.

Wir sehen somit, daß die bloße Verklebung von an sich ungenügend löslichen, aber durch andere Kolloide in Lösung erhaltenen Teilchen hinreicht, um sie ausfallen zu machen, und daß die Besonderheit dieser Fällung, die wir als Gerinnung bezeichnen, darauf beruht, daß die aufgetretenen Komplexe zunächst

[1]) Dieser Umstand erklärt, warum das Thrombin, obwohl es quantitativ wirkt, dennoch zum großen Teil „unverbraucht" nach der Gerinnung wiedergefunden wird, eine Tatsache, die den Gerinnungstheorien viel zu schaffen gemacht hat!

noch nicht ihrer früheren Lösungsvermitler beraubt sind, also noch Beziehungen zum Lösungsmittel haben. Erst wenn diese aufgehoben werden (Defibrinieren usw.), ergibt sich das Fibrinkoagulum, das wie alle anderen ausgefällten (nicht mehr kolloidverteilten) Eiweißkörper unlöslich ist.

Bei der typischen Gerinnung sind es somit die als Thrombin bezeichneten Abbauprodukte, welche die Verklebung der Teilchen bewirken: fehlen dieselben, so kommt die Vereinigung der Fibrinteilchen nicht zustande, weil sie im Plasma durch die zahlreichen, besser löslichen Kolloide isoliert, „geschützt“ sind. Je reichlicher diese resp. die sie stabilisierenden Abbauprodukte vorhanden sind, desto schwerer sind die Fibrinteilchen zur Verklebung zu bringen, denn ein um so größeres Hindernis besteht gegen ihre Vereinigung zu Komplexen. Dieses Moment kommt in der schwereren Gerinnbarkeit solcher Lösungen (als „Antithrombin“) zum Ausdruck; wir haben schon in früheren Arbeiten darauf hingewiesen, daß darunter nicht ein bestimmter Stoff, sondern überhaupt die die Löslichkeit der Kolloide (und der Fibrinteilchen) erhöhenden Abbauprodukte vorzustellen sind.

Es dürfte daher verständlich sein, daß es auch Gerinnungen ganz ohne Thrombin gibt. Notwendig hierzu ist ja bloß, daß die Vereinigung der Fibrinteilchen auf irgendeine andere Weise zustande komme. Dies ist freilich erst möglich, wenn die dieser Vereinigung entgegenwirkenden Faktoren, d. h. die anderen Kolloide und Lösungsvermittler, vermindert werden, wie es der Fall ist, wenn wir das Fibrinogen aus der Serummischung herausnehmen. Eine gereinigte Fibrinogenlösung enthält nur noch wenige, in Salzlösungen lösliche Globuline, die Fibrinteilchen sind daher viel schlechter voneinander isoliert als im Plasma. Derartige Lösungen gerinnen häufig schon spontan bei längerem Stehen (wenn ihr Salzgehalt nicht zu groß ist), namentlich aber, wenn durch Entfernung der Salze die Löslichkeit der Globuline herabgesetzt wird, z. B. in der Dialysierhülse. Sehr schnell und deutlich kann aber das Phänomen hervorgerufen werden, wenn man das „reine“ Fibrin nicht durch Salzfällung, sondern durch Verdünnung des Plasmas mit $^{n}/_{300}$-HCl darstellt. Der durch Zentrifugieren erhaltene Bodensatz besteht aus Fibrinogen + Globulinen; da sich diese letzteren in phys. NaCl-Lösung leicht wieder kolloid verteilen, geht der ganze

Niederschlag in Lösung; schon nach 1- bis 3stündigem Stehen gerinnt aber diese Lösung spontan in typischer Weise, eine Erscheinung, die schon von Nolf[1]) beschrieben wurde, ohne daß derselbe eine befriedigende Erklärung dafür geben konnte. Er faßte sie vielmehr als Beweis für die Präexistenz des Thrombins im strömenden Blute auf. Sicher ist, daß Kalk hierbei nicht erforderlich ist, da auch bei (geringem) Oxalatgehalt aller verwendeten Reagenzien diese Gerinnung eintritt; die Erklärung ist dagegen eine andere, nach dem vorhergehenden leicht verständliche. Die Fibrinteilchen wurden mit der Auflösung der Globuline zunächst kolloid verteilt, sind aber doch ungenügend geschützt. Sie verkleben daher infolge der gegenseitigen Berührung, in die ihre unlöslichen Oberflächen fortwährend durch die Molekularbewegung kommen, und führen so die Erstarrung (meist stärker opak!) herbei.

Der beschriebene Vorgang läßt sich auch erzielen, wenn man den Fibrinogenniederschlag anstatt in NaCl in anderen globulinlösenden Salzen löst, wobei ähnliche Unterschiede beobachtet werden, wie wir sie in Mitt. IV bei Besprechung der Mittelstückwirkung des Komplementes kennen gelernt haben. Gewisse Salze wie Na-Citrat (2%), Na-Oxalat (1%) usw. lösen nämlich deutlich schneller, ja sie können sogar die Fibrinogenteilchen so weit stabilisieren, daß die spätere spontane Gerinnung ausbleibt. $CaCl_2$ (1%) löst ebenfalls schnell, führt aber dann meist rascher als NaCl zur Gerinnung des Fibrinogens, sei es, weil die eintretenden Ca-Salzverbindungen als solche das Fibrinogen noch weiter in seiner Löslichkeit herabsetzen, oder weil sie in der Lösung noch prothrombinartige (bei der Fällung mitgerissene) Abbauprodukte vorfinden, mit denen sie zusammen Thrombin bilden. Auch gegen Alkalizusatz verhalten sich solche Fibrinogenbodenzusätze in ihrer Löslichkeit und Gerinnbarkeit ganz analog wie Mittelstückfällungen. Mit $^n/_{1000}$-Lauge + NaCl gelöst, gerinnt die Lösung am schnellsten, weil sie ganz neutral ist; mit $^n/_{500}$- bis $^n/_{200}$-Lauge tritt die Lösung noch schneller, die Gerinnung aber schon verzögert, wenn auch noch sehr ausgesprochen ein (unter größerer Durchsichtigkeit des Koagulums). Mit noch mehr Lauge oder mit Säure bleibt sie aus, weil diese zu sehr stabilisierend auf die Fibrinogenteilchen wirken.

Fragen wir uns jetzt nach den Beziehungen, die zwischen dieser Art von Gallerte, wie sie die Gerinnung ergibt, und den echten Gallerten bestehen, so fallen ebenfalls wesentliche Unterschiede ins Auge. Wie bei der Erstarrung erhitzter Sera liegt

---

[1]) Acad. roy. belg. Bull. de la classe des sciences **1913**, Nr. 5.

auch hier eine Fällung, d. h. ein an sich unlöslicher Bestandteil zugrunde, weshalb auch diese „Gelatinierung" vollkommen irreversibel ist[1]). Die Ähnlichkeit mit den eigentlichen Gallerten ist hier wie dort in dem Umstand gegeben, daß die Oberflächen des ausfallenden Eiweißes noch Lösungsvermittler tragen, die eine Bindung des Wassers an seine Oberfläche ermöglichen und daher die wirkliche Fällung verhindern. Bei der Gerinnung ist aber die Hauptmasse des Wassers rein mechanisch eingeschlossen und daher sehr leicht vom Eiweißkoagulum trennbar, während das Wasser der Hitze-Serum-Pseudogallerte fester gebunden, der Zustand in dieser Hinsicht somit den echten Gallerten näher ist.

Es gibt eigenartige atypische Fibringerinnungen, die so verlaufen, daß das Koagulum spröde, in seiner Konsistenz ganz ähnlich wie erstarrter Agar wird und sich mit der Pinzette nicht auspressen, nur zerdrücken läßt. Wir haben solche Gerinnungen gelegentlich bei Hammelplasma beobachtet, regelmäßig kann man sie aber erhalten, wenn man Kaninchen-Oxalat- (oder Zitrat-) Plasma bei Zimmertemperatur 1 bis 2 Tage stehen läßt. Wird dann rekalzifiert und einige Stunden nach Eintritt der Gerinnung versucht zu defibrinieren, so gelingt dies nicht, man kann Fibrin und Serum nicht trennen, während dasselbe Plasma, frisch rekalzifiert, leicht defibrinierbar war und das typische, elastische Fibringerinnsel ergab. Diese Umwandlung erfolgt schneller bei 37°, sie bleibt bei 0° aus. Wir möchten annehmen, daß hier proteolytische Vorgänge den Plasmakolloiden zugrunde liegen, die ähnlich wie bei der Hitzeerstarrung des Serums zu einer stärkeren Wasserbindung der Oberflächen führen. Solange noch alle Teilchen nebeneinander beweglich sind, kann sich diese Umwandlung nicht äußern. Bei der Vereinigung der Fibrinteilchen muß sie aber ganz analog zum Vorschein kommen wie bei der Hitzegerinnung oder beim Erstarren der Gelatine. Auf den ausfallenden Fibrinnetzen sitzen jetzt die anderen Kolloide, die alles Wasser nach Art einer echten Gallerte an ihre Oberfläche binden; es ist daher kein freies Wasser und darum auch kein (resp. fast kein) Serum vorhanden.

Ähnliche Verhältnisse wie für die Fibrin- bestehen auch bei der Caseingerinnung. Auch hier wird zunächst das ganze vorhandene Wasser eingeschlossen, zum größten Teil mechanisch, teilweise aber noch an die Oberflächen des Caseins

---

[1]) Die Wiederauflösung von Fibringerinnseln (Fibrinolyse) ist eine regelrechte Proteolyse, somit ein ganz anderer Vorgang, der keineswegs als Reversion gelten kann, auch nicht zu einer neuerlich gerinnungsfähigen Lösung (Fibrinogen) zurückführt.

(indirekt) gebunden. Diese Bindung ist noch lockerer als jene an das Fibrin, weshalb meist schon spontan eine rasche Trennung der löslichen und unlöslichen Komponenten des Koagulums einsetzt (Auspressen der Molke). Die Gerinnung des Caseins erfolgt in der Wärme (bei 60°) schon durch bloßen $CaCl_2$-Zusatz, ebenso durch Neutralisation mit schwachen Säuren. Auch hier können gewisse Polypeptide von der Stufe der Peptone (alle „Pepsin"präparate, viele pflanzliche Eiweißabbauprodukte wie Papayotin usw.) zusammen mit Ca-Salzen die Verklebung der Caseinteilchen schon bei mittleren Temperaturen herbeiführen („Lab"wirkung).

Bevor wir uns von diesen physikalischen resp. chemischen Überlegungen wieder der Biologie zuwenden, muß noch kurz einiges über die Art der osmotischen Wirkungen vorausgeschickt werden. Der osmotische Druck wurde vielfach als ein wirklicher Druck vorgestellt, der unter Umständen Zellen zerdrücken oder doch deformieren kann. Ein anschaulicheres Bild dürften wir dagegen erhalten, wenn wir von der eingangs angestellten Erwägung ausgehen, wonach jedes gelöste Teilchen in seinem Lösungsmittel die Neigung hat, eine größere Anzahl Moleküle des letzteren, also z. B. von Wasser um sich zu einer Sphäre zu gruppieren. Ist nun nicht soviel Lösungsmittel vorhanden, daß diese Sphären ganz ausgebildet sind, so muß jedes Teilchen eine ungesättigte Affinität zu weiterem Wasser aufweisen, derzufolge es noch Wasser an sich zieht, um seine Sphäre zu ergänzen. Diese Saugkraft, die gegenüber jeder Lösung sich geltend machen muß, in der das Wasser weniger gebunden (weniger in Sphären eingegliedert) ist, ist der osmotische Druck der Lösung. Es ist verständlich, daß er mit der Konzentration und der Temperatur steigen muß, denn je dichter die gelösten Teilchen nebeneinander sich drängen, desto weniger Wasser steht ihnen zur Verfügung, desto kleiner sind ihre Sphären; ebenso wird bei höherer Temperatur infolge der stärkeren Bewegung stets mehr Wasser von den äußeren Sphärenteilen abgestreift, diese daher gleichfalls verkleinert, was in beiden Fällen eine größere Wasseranziehung bedingen muß [1]).

---

[1]) In verdünnten Lösungen ist diese Anziehungskraft von der Natur (Masse und Löslichkeit) der gelösten Teilchen unabhängig, so daß äqui-

Grenzt eine Salzlösung mit z. B. 2 $^0/_0$ NaCl gegen eine solche von 1 $^0/_0$, so sind die Teilchen in der höher konzentrierten Lösung weniger mit Wasser gesättigt, jedes an die Grenzfläche kommende Teilchen zieht daher aus der wasserreichen (1 $^0/_0$) Lösung solange Wasser an, bis der Unterschied im Wassergehalt ausgeglichen ist. Das Wasser wird hierbei hauptsächlich in die 2 $^0/_0$ige Lösung aufgenommen, doch werden auch umgekehrt Salzteilchen von hier in die verdünnte Lösung hinauswandern und diese daher allmählich an Konzentration zunehmen. Die osmotische Saugkraft ist somit die Ursache der Diffusion des Salzes. Sind beide Schichten durch eine Membran getrennt, so wird der Austritt von Wasser gegenüber jenem von Salz noch mehr überwiegen, weil ja stets die freien Wassermoleküle leichter durch die Membran durchtreten werden als die durch ihre Wasserzonen vergrößerten Salzteilchen, die osmotische Wirkung wird dadurch nach einer Richtung überwiegen, kann aber nie ganz einseitig sein, so lange beide Stoffe diffusibel sind.

Ganz anders wie an molekular gelöste Teilchen ist das Wasser an viele Kolloide, namentlich an die irreversiblen Kolloide der Gruppe III gebunden. Ein osmotischer Druck, d. h. weiteres Wasseranziehungsvermögen, kommt hier nur in geringem Maße vor. Zwar binden auch diese Teilchen Wasser an ihre Oberflächen, was durch die an ihnen adsorbierten Abbauprodukte (und an diese gebundenen Salze) entsprechend deren Wasserlöslichkeit geschieht. Da aber trotz der Gegenwart dieser Löslichkeitsvermittler kein nennenswerter osmotischer Druck zustande kommt, so muß angenommen werden, daß dieselben durch die Adsorption die Fähigkeit zur Ausbildung größerer Wassersphären verloren haben. Die Kolloide besitzen daher zum Wasser eine Avidität, die zwar gelegentlich (als Quellungsdruck) beträchtliche Wirkungen entfalten kann, aber

molekulare Lösungen der verschiedensten, gut oder schwer löslichen Stoffe gleichen osmotischen Druck haben (von der Dissoziation abgesehen). In konzentrierten Lösungen, für die bekanntlich die Formeln für den osmotischen Druck nicht mehr verwendbar sind, ist der Druck relativ weit höher als in verdünnten Lösungen, es scheinen hier die Eigenschaften, speziell die Löslichkeit der Stoffe mehr in den Vordergrund zu treten.

doch nur zu langsameren Ausgleichen zu führen pflegt und daher nie die sehr schnellen, für die Zellorganisation gefährlichen Wasserströmungen auslöst, wie wir sie von den Salzlösungen her kennen.

Wir gehen jetzt zu der Frage über, wie sich in einer Gallerte, etwa erstarrter Gelatine, ein in Wasser gelöster Stoff ausbreiten kann. Derartige Gelatineschichten wurden ja häufig zum Studium der Membrandurchlässigkeit verwendet. Überschichtet man in einem Reagensglas erstarrte wasserhaltige Gelatine mit der Lösung irgendeines Stoffes, so geht an der Grenzschicht folgendes vor sich: Die Komplexe von Polypeptidmolekülen bilden mit ihren Wassersphären eine zusammenhängende Masse, in die ein Eindringen nur auf dem Wege des gebundenen Wassers möglich ist. Dieses teils ziemlich locker, teils auch fester gebundene Wasser stellt zwischen den Peptidteilchen ein sehr feines Netz von Wasserstraßen vor, das nur für kleinmolekuläre, in Wasser lösliche Stoffe befahrbar ist, während größere Moleküle natürlich nicht eindringen können. Enthält die aufgegossene Flüssigkeit nur große kolloide Teilchen, so wird von diesen nichts eintreten können. Molekular gelöste Stoffe, z. B. ein Neutralsalz, werden sich dagegen in diesem Wassernetz ausbreiten, wobei teils die Osmose, teils die chemische Affinität zu der Gelatine als treibende Kräfte in Betracht kommen. Da das vorhandene Wasser an die Gelatine gebunden ist, so findet ein Austritt desselben in die Salzlösung (unter Schrumpfung der Gelatine) nur dann statt, wenn wesentliche Konzentrationsunterschiede bestehen. In mäßig konzentrierter Salzlösung wird nur wenig Wasser abgegeben, dagegen wird eine deutliche Salzeinwanderung zu beobachten sein, die allmählich tiefere Schichten der Gelatine gewinnt, indem stets die noch salzfreien oder salzärmeren Gebiete das Salz von den schon hiermit versehenen anziehen. Diese Wanderung des Salzes durch „Diffusion“ wird begreiflicherweise vom Wassergehalt der Gelatine, ferner von ihrem Salzgehalt (d. h. von dem osmotischen Druckgefälle) sowie von der Temperatur und ähnlichen Momenten abhängen.

Wenn das über die Gelatine geschichtete Salz für diese nicht indifferent ist, sondern sich mit ihr verbindet, so daß die Eigenschaften der Gelatineteilchen verändert werden, so muß dies natürlich zu entsprechenden Veränderungen der Gallerte führen. So sehen wir z. B., daß die Aufnahme von Jod-, Brom-, Nitratsalzen zu einer Verflüssigung

derselben führt, weil diese Salze, wie schon erwähnt, die für die Komplexbildung notwendigen Ca-Salzbindungen der Gelatine verdrängen, während umgekehrt die mehrwertigen Sulfat-, Citratsalze und ähnliche, die mit Ca schwer lösliche Verbindungen eingehen, zu einer Verfestigung dieser Gallerte führen.

Stellen wir uns nunmehr vor, daß die bisher betrachtete Gelatinemasse nur eine sehr geringe Dicke aufweise und unter ihr wieder eine andere Lösung sich vorfinde, so wird das von obenher eindringende Salz natürlich nicht an der zweiten Grenzfläche haltmachen, vielmehr wird derselbe Vorgang, wie wir ihn im Innern der Gelatine kennen gelernt haben, sich auch gegenüber den angrenzenden Flüssigkeitsschichten fortsetzen, wobei die Frage, ob das betreffende Salz in dem neuen Milieu Gelegenheit zu seiner Bindung findet oder nicht, an erster Stelle stehen muß. Wäre nämlich unter der Gelatinemembran eine für Salz ganz indifferente Flüssigkeit, z. B. Benzol, so würde das Salz nicht weiter vordringen. Findet sich dagegen Wasser oder eine salzärmere Flüssigkeit, so wird diese das Salz an sich ziehen und gleichzeitig Wasser durch die Gelatineschicht nach der oberen, salzreicheren Lösung diffundieren lassen. Liegt darunter eine Lösung, die in quantitativer Hinsicht denselben Salzgehalt aufweist, so wird durch osmotische Kräfte keine nennenswerte Salzverschiebung zu erwarten sein. Hingegen wird das Salz auch dann in diese Schicht aufgenommen werden, wenn auf Grund chemischer Affinitäten eine Bindung desselben an die daselbst vorhandenen Stoffe stattfindet. Stellen wir uns z. B. vor, daß das durch die Gelatinemembran gelangte NaCl in der unteren Lösung auf $HgCl_2$ trifft, so wird es auch dann in dieselbe hineintreten, wenn hier derselbe osmotische Druck (gleiche Wasserbindung) herrscht, weil jetzt der Eintritt nicht mehr durch Diffusion, sondern durch Bindung (Doppelsalzbindung) erfolgt und die an die Grenze der Sublimatlösung kommenden Salzmoleküle sozusagen weggefangen werden und jeweils neue nachfolgen können.

Im folgendem möchten wir uns nun mit der Frage der Zellpermeabilität beschäftigen und hoffen, zeigen zu können, daß die Aufnahme und Abgabe der Stoffe seitens der Zellen durch die im vorhergehenden entwickelten Vorstellungen verständlich und in ihren wesentlichen Gesetzmäßigkeiten erfaßbar ist. Damit wäre als Frucht unserer diesmaligen Ausführungen

eine Grundlage gewonnen, mit deren Hilfe wir in folgenden Mitteilungen an die Besprechung verschiedener Probleme des normalen oder pathologischen Stoffwechsels herantreten können.

Wir haben in unserer ersten Mitteilung einiges über den Bau der Zellen und ihrer Membranen erwähnt und müssen dies zunächst noch ergänzen. Das Zellplasma besteht im wesentlichen aus Eiweißteilchen, an deren Oberfläche Abbauprodukte (meist als Salzverbindungen) und mit deren Hilfe gebundenes Wasser sich vorfindet. Diese Teilchen sind teils kolloid gelöst, d. h. ohne dauernde und feste Beziehung zueinander (verschieblich), teils zu mehr oder weniger festen Verbänden vereinigt; die ersten bilden das zähflüssige, strömungsfähige Plasma, die anderen das Gerüstplasma des Zellkörpers mit seinen verschiedenen, mikroskopisch erkennbaren Strukturen und morphologischen Feinheiten. Im flüssigen Plasma können noch lokale Flüssigkeitsansammlungen in Form von Tröpfchen, Vakuolen oder größeren Hohlräumen (Zellsaft), ferner feste Einlagerungen (Krystalle, Fett usw.) vorkommen. Außerdem besitzen fast alle Zellen eine besondere innere Organisation, die als Kern, Chromosomen, Zentrosomen, Chlorophyllkörner usw. erkennbar ist. Alle diese Einzelheiten liefern uns in ihrer räumlichen und zeitlichen Verteilung und Veränderung die wichtigsten Anhaltspunkte für das Studium der innerzellulären Vorgänge, ihre weitere mikrochemische und histologische Erforschung ist das hauptsächlichste und vielversprechende Arbeitsfeld der Zellphysiologie. Wir beabsichtigen, in späteren Arbeiten auf verschiedene hierhergehörige Fragen näher einzugehen, an dieser Stelle müssen wir uns dagegen auf einige mehr allgemeine Erörterungen beschränken.

Wichtig ist hier zunächst die Feststellung, daß die Konzentration der Stoffe im Zellplasma in der Regel eine sehr hohe ist, namentlich jene der Eiweißkörper und der von ihnen festgehaltenen Abbauprodukte und Salze; da daneben noch andere teils selbst lösliche, teils durch Lösungsvermittler kolloid verteilte Stoffe wie Lipoide, Fette usw. vorkommen, so ist alles Wasser mehr oder weniger fest an diese Plasmabestandteile gebunden, während freies Wasser kaum vorkommen dürfte. Dies muß darum hervorgehoben werden, weil man sich den Eintritt von Stoffen in die Zellen häufig ganz ähnlich wie das

osmotische Sichverteilen von Stoffen im Wasser (oder doch in viel freies Wasser enthaltenden Lösungen) vorgestellt hat und dann verwundert war, daß die entsprechenden Gesetze doch nicht ohne weiteres auf die Zellen übertragbar waren. Daß z. B. eine Bakterienzelle aus einer ganz verdünnten Lösung von Nährsalz trotz und entgegen ihrer hohen Innenkonzentration noch weitere Bausteine aufnimmt, läßt sich osmotisch nicht erklären; es ist aber an Hand unserer Vorstellungen sehr leicht begreiflich, weil das schon vorhandene Eiweiß (das wegen der Membranundurchlässigkeit nicht hinaustreten kann) diese Stoffe, z. B. Salze, Aminosäuren usw., an sich bindet, da es ja chemische Affinitäten zu denselben besitzt. Der Eintritt eines neuen Stoffes kann deshalb auch entgegen dem osmotischen Gefälle erfolgen, worauf wir noch im folgenden zurückkommen werden.

Beachtung verdient ferner die Tatsache, daß im Zellplasma, namentlich in Zellen mit intensiverem Stoffumsatz, eine gewisse Bewegung, eine Strömung, herrscht, die stets wieder neue Teile des Zellinnern an die Membran heranbringt, ein Moment, das für die Lebhaftigkeit des Stoffaustausches gewiß von Bedeutung ist.

Die Zellmembran stellen wir uns, wie schon in unserer letzten Mitteilung anläßlich der Hämolyse ausgeführt wurde als gleichfalls aus gefällten (zu Komplexen vereinigten, an Lösungsvermittlern relativ ärmeren) Eiweißteilchen bestehend vor, die ein bald feineres, bald gröberes Netzwerk bilden, in dessen Maschen andere abdichtende Stoffe (kolloid gelöstes Eiweiß, Lipoid usw.) eingelagert sein können. So kommt ein Aufbau zustande, der in bezug auf die Durchlässigkeit (die Hauptaufgabe der Membran s. Mitt. I) ganz ähnliche Verhältnisse schafft, wie wir sie oben an der Gelatine besprochen haben, nur daß die Zusammensetzung eine buntere, die Festigkeit infolge Einlagerung an sich unlöslicher Teilchen eine größere zu sein pflegt. Chemischer Aufbau und physikalische Beschaffenheit der Membranen wechseln natürlich von Zelle zu Zelle: Die fortwährend sich verändernden Oberflächen, wie sie z. B. eine Amöbe aufweist, sind nur denkbar, wenn die Membran durch entsprechende Einlagerung neuer Teilchen oder Rücktritt solcher in das flüssige Plasma den wechselnden Ausdehnungen der Zellmasse folgt. Eine solche Membran ist häufig wohl nichts

anderes als eine frisch entstandene Eiweißfällung an der Grenze von Plasma und Außenflüssigkeit, sozusagen die Grenzschicht des Zellplasmas. In anderen Fällen finden wir dagegen Membranen, die zweifellos besondere Strukturen aufweisen und auch eine diesem komplizierten Aufbau entsprechende Funktion besitzen (z. B. am Bürstensaum, an Flimmerhaaren usw.). Neben den eigentlichen Zellmembranen kommen Membranen im Sinne von Scheidewänden sowohl im Tier- wie im Pflanzenreiche sehr häufig zwischen den Zellen oder Zellgruppen vor, die von den benachbarten Zellen durch Ausscheidung hervorgebracht werden; sie haben die Aufgabe, durch ihre Semipermeabilität die Stoffzirkulation in den Geweben zu regulieren (Zellulosewände, Bindegewebs-, Basalmembranen und ähnliche). Die exakte Beobachtung der für jede Membran charakteristischen physikalischen und chemischen Eigenheiten wird gewiß ermöglichen, das Verhalten der Zellen und der Organe unter den wechselnden Bedingungen, unter denen sie in der Natur oder im Experiment sich vorfinden können, besser zu verstehen und eventuell in gewünschter Weise zu modifizieren.

Treten wir jetzt an das Problem der Zellpermeabilität, d. h. der Aufnahme und Abgabe von Stoffen seitens der Zellen heran, so dürfte dasselbe kaum noch größere Schwierigkeiten bieten. Wir sind im Vorhergehenden zu der Vorstellung gekommen, daß das Protoplasma trotz seinem komplizierten und feingegliederten Aufbau im wesentlichen aus Eiweißteilchen besteht, die sich untereinander mit dem an ihre Oberflächen mehr oder weniger fest gebundenen Wasser berühren. Das dadurch geschaffene System feinster Wasserstraßen[1]) mündet entweder allseitig oder wenn die Membran z. T. abgedichtet ist, nur an bestimmten Stellen derselben zwischen deren Eiweißteilchen nach außen und bildet die Ein- und Austrittspforten für permeable, d. h. kleinmolekulare Stoffe. Wesentlich für den Eintritt eines Stoffes ist zunächst seine Teilchengröße; großmolekulare (kolloide) Stoffe werden natürlich zu-

[1]) Eine Vorstellung, die von den früher angenommenen schaumig oder wabigen Strukturen des Protoplasmas merklich verschieden ist; diese möchten wir nur für den gröber-mikroskopischen Bau des Plasma, wo sie ja direkt sichtbar sind, gelten lassen, nicht aber für seine kolloidchemische Struktur (s. o.).

rückgehalten, und insofern besteht der ältere Begriff eines „Molekülsiebes" der Plasmahaut (Traube, Ruhland) zu recht. Nicht minder wichtig ist aber die zweite Frage, ob dem betreffenden Stoff solche Affinitäten zukommen, daß er von der Membran und von dieser aus weiter ins Zellplasma aufgenommen wird. Zunächst kommt hierbei wohl Adsorption und lockere Bindung (z. B. nach Art der Pfeifferschen Salzverbindungen) in Betracht, die aber, sowie Synthesen ablaufen, zu weiterer chemischer Verwendung des aufgenommenen Stoffes führen.

Diese Tatsache erklärt, warum die Zelle zwischen den sie umgebenden Stoffen „auswählt", d. h. warum nicht jeder beliebige Stoff, der außen in einer gegebenen Konzentration vorkommt, sich durch Diffusion im Innern verbreitet, wie man in der Tat vielfach erwartet und doch nie bestätigt gefunden hat. Im Zellinnern ist eben kein freies Wasser, sondern bloß das schon an Kolloide gebundene Wasser, und es besteht für außen befindliche Moleküle kein Grund zum Eintritt in diese relativ gesättigten Lösungen, wofern nicht chemische Bindungen erfolgen. Ist aber letzteres der Fall, so werden die in die Membran gelangten Moleküle vom Plasma weggenommen, es können daher weitere an ihre Stelle rücken, die wieder aufgenommen werden usf., bis infolge Absättigung der bestehenden Affinitäten des Plasmas ein Stillstand eintreten muß. Bei mangelnder Bindungsfähigkeit an das Plasma (oder Zellsaft usw.) bleibt der Stoff außen, und es wäre natürlich unrichtig zu sagen, daß daher die Membran für ihn undurchlässig ist. Dies trifft, wie erwähnt, nur für die grobmolekularen Körper zu. Für kleine und daher an sich diffusible Moleküle ist der Grund ihres Nichteintritts vielmehr so zu formulieren: sie finden im Zellinnern keine Affinitäten vor, denen zufolge sie aus der Umgebung angezogen werden.

Ist außen nicht Wasser, sondern gleichfalls eine eiweißreiche, relativ konzentrierte Flüssigkeit (Blutplasma usw.), so wird außerdem eine Konkurrenz der Affinitäten bestehen müssen, d. h. ein Stoff wird sich mehr außen oder innen ansammeln, je nachdem dort oder hier größere Affinitäten für ihn bestehen.

So dürften sich die bekannten Beobachtungen erklären,

nach denen gewisse Stoffe elektiv in manchen Zellen oder Organen sich anreichern (z. B. Jodsalze in der Schilddrüse), während sie im Blute nur in geringsten Mengen vorkommen; oder umgekehrt in manchen Zellen fehlen, z. B. Na-Salze in Pferdeerythrocyten (Abderhalden), während sie in der umgebenden Flüssigkeit (Blutplasma) reichlich vorhanden sind.

Es dürfte somit überflüssig sein, eine besondere „physiologische“ Permeabilität, die im Gegensatz zu der experimentell nachweisbaren „physikalischen“ steht, zu postulieren (Höber). Dies mag zu einer Zeit notwendig erschienen sein, als man das physiologische Verhalten der Zellen nicht genügend erklären konnte. So kam man zu der merkwürdigen Vorstellung, daß die Zellmembran gerade für alle Plasmabausteine (Salz, Zucker, Aminosäuren usw.) undurchlässig sein sollte, obwohl diese kleinmolekulare dyalisierende Körper sind, während sie für viele giftige Stoffe sich permeabel erwies! Jetzt, wo wir für diese Erscheinungen eine befriedigende chemische Erklärung besitzen, kann dieser vitalistische Verzicht auf eine Erklärung als überwunden gelten.

Im allgemeinen überwiegt in der Zelle die Fähigkeit, geeignete Stoffe aufzunehmen und dadurch die Zellmasse zu vermehren. Hierin ist die physikalisch-chemische Grundlage der fortwährenden Vermehrung der Organismen gegeben, die ja stets so weit geht, als vorhandenes Baumaterial und eventuelle andere Hemmungen (Feinde) usw. es gestatten. Bei dieser Synthese entstehen aber auch gewisse Abfallstoffe, die wieder aus der Zelle entfernt werden müssen, sollen sie sich nicht im Innern derselben ansammeln und die Organisation derselben bedrohen. Die Art, wie diese Exkretion erfolgt, ist eine sehr mannigfaltige und wird uns später noch öfters beschäftigen. Hier sei nur darauf verwiesen, daß ebenso wie für die Aufnahme auch für die Abgabe der Stoffe die Zirkulation des Zellplasmas von großer Bedeutung ist. Neben dieser inneren besteht in der Regel auch eine äußere Zirkulation, sei es, daß die Zelle sich im ganzen weiterbewegt, oder daß eine Körperflüssigkeit zwischen den Zellen vorbeibewegt wird. Ferner sei hier noch angedeutet, daß in vielen Zellen bestimmte Richtungen des Stoffwechsels bestehen, denen zufolge eine Seite vor allem der Aufnahme, eine andere der Abgabe dienen

kann. Manche Zellen sind fast ganz auf Vermehrung der Zellmasse eingerichtet und liefern fast keine Exkrete (Tumorzellen, embryonale Gewebe), in anderen ist dagegen der einseitige Zerfall der Zellmasse geradezu zum Beruf geworden (Drüsenzellen, Sekretionsorgane). Hier muß natürlich der Bau der Zelle für die Ausbildung des Stoffstromes als Ursache in Betracht kommen, wobei aber Einflüsse der Umgebung, z. B. Blutgefäße einerseits, abführende Sekretwege (Harnkanälchen, Darmlumen usw.) andrerseits fördernd oder auch modifizierend eingreifen.

Im Zusammenhang mit der Zellpermeabilität sei noch kurz die bekannte Erscheinung der Plasmolyse besprochen, worunter die Botaniker vor allem die plötzliche Schrumpfung des Plasmaschlauches infolge Einwirkung gewisser wasserentziehender Agenzien verstehen, während in der Zoologie mehr die Auflösung von Zellen (Cytolyse) damit bezeichnet wird. Das locker an die Plasmakolloide gebundene Wasser kann durch stark osmotische („hypertonische") Lösungen rasch an sich gezogen werden, das Plasma wird daher an Volumen abnehmen. Dringt hierauf allmählich das außen befindliche Salz in das Zellinnere ein, so kann damit ein Ausgleich in der Menge der wasserbindenden Stoffe zwischen Außen und Innen gegeben sein; dem entsprechend wird auch das Wasser sich anders verteilen müssen, so daß der zuerst eingetretene Wassermangel des Plasmas ausgeglichen und sogar überkompensiert werden kann, sobald viel wasseranziehende Stoffe in der Zelle gebunden werden (oder wenn z. B. durch den eindringenden Stoff (z. B. Alkali im Protoplasma Aufspaltungen eingeleitet werden, die das Wasser-[und Salz-]bindungsvermögen der Kolloide erhöhen usw.) Ein starkes Zuströmen von Wasser stellt an die Dehnbarkeit der Membran eine große Anforderung, der sie unter Umständen nicht gewachsen sein kann. Ihre Semipermeabilität kann dadurch entweder allseitig aufgehoben werden (z. B. bei der Hämolyse), oder durch einen Riß der Membran den innen befindlichen Stoffen der Austritt frei werden. Diese Erscheinungen haben in der Regel schwere Störungen der Zellorganisation zur Folge (vielfach den „Tod", d. h. irreversible Schädigungen), und es ist begreiflich, daß nur solche Lebewesen auf die Dauer erhalten bleiben konnten, die

gegen derartige Vorkommnisse genügend geschützt waren. Die Anpassungseinrichtungen, die in dieser Hinsicht ausgebildet wurden, sind wie immer äußerst mannigfaltige und können hier nicht im einzelnen besprochen werden. Vielfach wurden besondere Hüllen hervorgebracht, die vor Berührung mit anisotonischen Lösungen (Süßwasser, Regen) schützen (epidermale Umwandlungen des Körpers wie Chitin, Hautorgan usw.); andere Organismen sind tatsächlich an bestimmte Salzkonzentrationen ihrer Umgebung gebunden und gehen zugrunde, sobald diese zu schnell herabgesetzt wird (viele Meerestiere, Blutparasiten usw.) Wieder andere sind vom Salzgehalt ihres Milieus auf andere Weise weitgehend unabhängig, z. B. viele Bakterien, Infusorien usw., die auch in sehr salzarmen Wasser leben können; was um so erstaunlicher ist, als sie oft sehr zarte Plasmafortsätze (Geisseln, Flimmerbesatz) tragen. Daß diese nicht einer raschen Auflösung erliegen, kann nur möglich sein, wenn dieselben eben kein Wasser aufnehmen, vermutlich weil ihr Eiweiß an Abbauprodukten und daher auch an Salzverbindungen sehr arm ist; das umgebende Wasser hat daher keinen Grund, ins Innere der Geißelfäden (unter Quellung derselben) einzutreten.

Wir sind überzeugt, daß die allgemeine Physiologie aus den im vorhergehenden entwickelten Vorstellungen für viele Lebenserscheinungen einfache und befriedigende Erklärungen gewinnen wird. Wir müssen uns hier leider versagen, auf Einzelheiten, z. B. auf das so interessante Gebiet der Vitalfärbungen, auf die Narkose und Chemotherapie, näher einzugehen und möchten uns in einer folgenden Mitteilung dem Stoffwechsel speziell der höheren Organismen zuwenden; hierbei werden sich für die Richtigkeit unserer Grundlagen neue Beweise erbringen lassen und wird sich ihre wissenschaftliche Brauchbarkeit an einzelnen Problemen bewähren.

Zusammenfassung.

1. Jede Lösung beruht auf der Verbindung des gelösten Stoffes mit meist mehreren Molekülen des Lösungsmittels. Hierbei wird entweder eine molekular-disperse oder eine kol-

loide Verteilung des gelösten Stoffes erreicht. Unter den Kolloiden werden diejenigen, die aus an sich löslichen Teilchen bestehen, als „lösliche" den „unlöslichen" gegenübergestellt, zu denen die selbst wasserunlöslichen, aber durch Lösungsvermittler stabilisierten Kolloide gehören. Die Lösungsvermittler befinden sich an den Oberflächen der letzteren auf Grund chemischer Affinitäten adsorbiert vor. Ein typisches Beispiel für unlösliche Kolloide sind die Eiweißkörper, die zu definieren sind als solche hochmolekulare, polypeptidartige Verbindungen von Aminosäuren, die an sich wasserunlöslich sind, aber durch wasserlösliche Spaltstücke kolloid verteilbar sind und aus solchen Lösungen bei neutraler Reaktion durch Hitze ausgefällt werden. — Gelatine ist kein Eiweißkörper, sondern ein durch Ca-Salze polymerisiertes Polypeptidgemisch, das den „löslichen" Kolloiden zugehört.

2. Viele Vertreter der löslichen Kolloide können „echte" Gallerten bilden. Wesentlich für deren Zustandekommen ist die Fähigkeit zur Komplexbildung (Aneinanderlagerung) der Teilchen neben einem hohen Wasserbindungsvermögen. Der Gallertzustand beruht ja darauf, daß alles vorhandene Wasser an die Oberflächen der Kolloidteilchen gebunden ist. In der Hitze zerfallen diese Komplexe wieder molekular, weshalb diese Gallerten stets reversibel sind. Hierzu in Gegensatz werden die unechten Gallerten gestellt, wie sie viele Körper aus der Gruppe der unlöslichen Kolloide bilden. Auch hier beruht die Umwandlung in eine Gallerte auf einer Komplexbildung, d. h. Zusammenlagerung von Teilchen; da diese nicht wieder aufgehoben werden kann, ist auch ihr Gallertzustand stets irreversibel. Von den bloßen Fällungen unterscheiden sich die unechten Gallerten durch eine (teilweise oder vollständige) Bindung des Wassers an die Oberflächen der ausfallenden Teilchen, die durch andere an ihnen adsorbierte Kolloide vermittelt wird (Beispiele: Hitze-Erstarrung von (nicht neutralisiertem) Serum, Fibrin- und Kasein-Gerinnung). Es wird speziell die Fibringerinnung ausführlicher besprochen und eiweiß-chemisch aufgeklärt, sowie eine neue Definition des „Fibrinogens" gegeben.

3. Auf Grund der entwickelten physikalischen und chemischen Erkenntnisse über den Bau der Eiweißkörper ergibt sich

für das Problem der Zellpermeabilität und des Zellstoffwechsels eine einfache und befriedigende Lösung. Wesentlich ist, daß im Innern der Zelle fast kein freies, sondern fast nur an Kolloid-Oberflächen gebundenes Wasser vorkommt. Es treten daher in die Zelle nur solche Stoffe ein, deren Teilchen nicht zu groß sind, um durch die Membran passieren zu können, und für welche außerdem im Zellplasma (oder Zellsaft) chemische Affinitäten bestehen.

Über eine einfache Methode zur Bestimmung von Harnsäure neben Tyrosin.

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Aus dem chemischen Laboratorium der medizinischen Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 11. März 1918.)

Aus neueren Untersuchungen von Verdauungsflüssigkeiten ergaben sich Tatsachen, die die stete Anwesenheit von Tyrosin neben Harnsäure vermuten lassen, so daß die colorimetrischen Methoden von O. Folin und W. Denis[1]) zur quantitativen Tyrosinbestimmung und von O. Folin und A. B. Macallum[2]) zur quantitativen Harnsäurebestimmung für solche Fälle nicht ohne weiteres anwendbar sind. Das verwendete Phenolreagens erzeugt nämlich unter den angegebenen Bedingungen sowohl mit Harnsäure, wie auch mit Tyrosin intensiv blau gefärbte Lösungen und ermöglicht den Nachweis dieser Körper noch in einer Verdünnung von 1 : 1000000.

In vorliegender Mitteilung soll eine Methode beschrieben werden, die obige Schwierigkeiten beseitigt und eine quantitative Bestimmung von Harnsäure neben Tyrosin mit demselben Reagens gestattet.

Reagenzien: 1. Phenolreagens nach O. Folin und W. Denis. 100 g wolframsaures Natrium, 20 g Phosphormolybdänsäure, 50 ccm 85%ige Phosphorsäure und 750 ccm Wasser werden 2 bis 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht und nach dem Abkühlen mit Wasser bis 1000 ccm aufgefüllt.

---

[1]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. **12**, 245, 1912.

[2]) O. Folin und A. B. Macallum, Journ. of Biolog. Chem. **13**, 363, 1912; E. H. Haggenmacher, Inaug.-Diss., Zürich 1915.

2. Gesättigte wäßrige Sodalösung.

Herstellung einer Harnsäure-Vergleichslösung: 0,1 g Harnsäure und 0,1 g Lithiumcarbonat werden in 100 ccm Wasser bei Zimmertemperatur unter Umrühren (Glasstab mit Gummiende) gelöst. 1 ccm (= 1 mg Harnsäure) dieser Lösung wird mit 10 ccm Phenolreagens etwa 5 Minuten geschüttelt, sodann 30 ccm der gesättigten Sodalösung hinzugefügt und mit Wasser bis 100 ccm aufgefüllt. Man läßt über Nacht stehen und kann am anderen Tage diese tiefblaue Flüssigkeit als Vergleichslösung verwenden; die Lösung ist nur drei Tage unverändert haltbar.

Herstellung einer Tyrosin-Vergleichslösung: 0,1 g Tyrosin und 0,1 g Lithiumcarbonat werden mit 100 ccm Wasser erwärmt, bis alles Tyrosin in Lösung geht. Nach dem Abkühlen wird genau bis 100 ccm aufgefüllt. 1 ccm (= 1 mg Tyrosin) dieser Lösung wird mit 10 ccm Phenolreagens etwa 5 Minuten geschüttelt und dann mit 30 ccm der gesättigten Sodalösung versetzt und mit Wasser bis 100 ccm aufgefüllt. Auch diese tiefblaue Lösung zeigt am anderen Tage das Optimum der Farbenintensität und ist mehrere Wochen lang unverändert haltbar.

Beim colorimetrischen Vergleich dieser beiden Lösungen zeigte es sich, daß die Tyrosin-Vergleichslösung etwa doppelt so stark blau gefärbt ist als die Harnsäure-Vergleichslösung. Bei Verwendung einer Harnsäure-Vergleichslösung für Tyrosinbestimmungen müssen die erhaltenen Werte mit 1,45 multipliziert werden, und für eine Tyrosin-Vergleichslösung bei Harnsäurebestimmungen ist der Faktor 0,68.

Ausführung der Bestimmungen: Eiweißhaltige Lösungen müssen durch Hitzekoagulation enteiweißt, zuckerhaltige durch Hefe vergoren (Kontrolle mit Hefe in Wasser!) werden; hierbei ist es zweckmäßig, die Koagulation bei Anwesenheit von Formaldehyd vorzunehmen, welcher Körper nach Schittenhelm[1]) mit Harnsäure eine in der Hitze leicht lösliche Verbindung liefert, wodurch eine Adsorption von Harnsäure an die ausfallenden Eiweißkörper vermieden wird.

1 ccm der zu prüfenden eiweißfreien Lösung versetzt man

---

[1]) Schittenhelm, Münch. med. Wochenschr. **59**, 23, 1912.

mit 10 ccm Phenolreagens, schüttelt etwa 5 Minuten, fügt dann 30 ccm der gesättigten Sodalösung und füllt mit Wasser bis 100 ccm auf. Nach etwa 16 Stunden Stehen bestimmt man im Colorimeter mit der Tyrosin-Vergleichslösung die vorhandenen Harnsäure- und Tyrosinmengen. Hierauf wird 1 ccm der zu prüfenden Lösung mit 0,5 ccm 33%iger Natronlauge und 3 Tropfen einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung einige Minuten gekocht, wobei die etwa vorhandene Harnsäure vollständig zerstört wird, hingegen Tyrosin unverändert bleibt. Man kühlt ab, fügt tropfenweise 1 ccm Eisessig hinzu, dann 10 ccm Phenolreagens und schließlich 30 ccm der gesättigten Sodalösung, und füllt mit Wasser bis 100 ccm auf. Man bestimmt im Colorimeter mit der Tyrosin-Vergleichslösung das übriggebliebene Tyrosin, subtrahiert den Wert von der vorherigen Bestimmung und rechnet den Wert aus der Differenz mit Hilfe des obigen Faktors aus.

Die bisherigen Untersuchungen ergaben sehr befriedigende Resultate und bestätigten die Annahme, daß Tyrosin in Verdauungsflüssigkeiten sich vorfinde. Im Blut, Harn und anderen Körperflüssigkeiten konnten Tyrosin neben Harnsäure nachgewiesen werden. Weitere Versuche sind im Gange.

Über die Ausnutzung des Maises bei Hühnern, Enten und Gänsen.

Von

K. Szalágyi und A. Kriwuscha (Kiew).

(Aus der Kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation in Budapest [Vorstand: Weiland F. Tangl].)

(Eingegangen am 13. März 1918.)

Über die Ausnutzung des Rohproteins des Maises bei Schweinen liegen einige ältere Arbeiten von Wolff[1]), Heiden[2]) und Goesman[3]) vor, die zu dem übereinstimmenden Resultat geführt hatten, daß das Rohprotein vom Schwein zu etwa 84,5 bis 86% resorbiert wird. Zu einem ähnlichen Resultat ist Zaitschek[4]) in zwei Arbeiten gekommen, der seine Untersuchungen auch nach einer anderen Richtung ausgedehnt hatte. Indem er nämlich neben dem Stickstoff- auch den Energiegehalt des Maises, sowie auch des Kotes bestimmte, konnte er nicht nur die Menge des resorbierten Rohproteins, sondern

---

[1]) E. v. Wolf, W. Funke und S. Dittmann, Versuche über das Verdauungsvermögen der Schweine für verschiedene Futtermittel und Futtermischungen. Landwirtschaftl. Versuchsstation 19, 241, 1876.

[2]) E. Heiden und Fr. Voigt. Beitrag zur Ernährung des Schweines. Landwirtsch. Centralbl. 1876, 204. Zitiert nach: Th. Dietrich und J. König, Zusammensetzung und Verdaulichkeit der Futtermittel. II. Aufl. 2, 1116.

[3]) C. A. Goesmann. Zitiert nach Th. Dietrich und J. König; ibidem.

[4]) Arthur Zaitschek, Über die Ausnutzung des Maises im Schweine. Mitteilungen der Versuchsstationen Ungarns. 10, 463, 1907. Derselbe, Über die Verdaulichkeit einiger wichtiger Futtermittel im Schweine. Ibidem 13, 793, 1910.

auch die der resorbierten chemischen Energie, den „Verdauungskoeffizienten" der chemischen Energie des Maises feststellen. Ferner konnte Zaitschek, in seiner erstgenannten Arbeit auch den phys. Nutzeffekt des Maises im Schweine feststellen. Von den Versuchen, die an Vögeln angestellt wurden, kämen hier die von E. W. Brown[1]) und die von S. Paraschtschuk[2]) in Betracht, von denen uns jedoch bloß die letztere zugänglich war. Der Verdauungskoeffizient des Rohproteins bei Paraschtschuk betrug, von uns in der gewöhnlichen Art[3]) berechnet, bei Hahn 1, Huhn 1 und 2, Hahn 3, die mit Mais gefüttert wurden, 83,6 resp. 85,8, resp. 86,7 resp. 86,2; das sind Werte, die den oben angeführten sehr nahe stehen.

Die Übereinstimmung in den Verdauungskoeffizienten des Rohproteins des Maises im Schwein einerseits und im Huhn andererseits, die aus den Versuchen von Paraschtschuk hervorgeht, ließ es wünschenswert erscheinen, diesen Tatbestand durch weitere Versuche, u. zw. nicht nur an Hühnern, sondern auch an einer anderen Vogelart, an Enten, zu erhärten.

Unsere Versuche waren so eingerichtet, daß nicht nur der Verdauungskoeffizient des Rohproteins des Maises ermittelt werden konnte, sondern, da die Tiere auch einen Anus praeternaturalis trugen, und Harn und Kot an ihnen getrennt aufgefangen wurden, es konnte an ihnen, wie in Zaitscheks erstgenannter Arbeit, sowohl der Verdauungskoeffizient der im Mais eingeführten chemischen Energie berechnet werden, als auch der physiol. Nutzeffekt des Maises in Enten und Hühnern. — Die Enten, die diesen Versuchen dienten, waren dieselben

[1]) E. W. Brown, Mitteilungen der Deutschen Landw. Gesellschaft 1905, Stück 31. Zitiert in: Emil Pott, Handbuch der tierischen Ernährung und der landwirtschaftlichen Futtermittel, II. Aufl. 2, 1907, 48.

[2]) Simeon Paraschtschuk, Die Verdauung des Maises bei Hühnern. Journ. für Landwirtschaft 50, 15, 1902.

[3]) Paraschtschuk unterwarf den Kot einer 24stündigen Pepsin-HCl-Verdauung, wobei ungefähr die Hälfte des Kotstickstoffs in Lösung ging. Diesen Anteil betrachtet er als von „Stoffwechselprodukten" herrührend, und nur den Stickstoff im unverdauten Kot als nicht resorbierten Kotstickstoff. Dementsprechend sind die von dem berechneten Verdauungskoeffizienten des Stickstoffs (resp. Rohproteins) höher als die unsrigen; sie betragen 87,3, 93,0 93,9 und 95,6.

Tiere, an denen die an anderer Stelle beschriebenen Versuche[1]) ausgeführt wurden.

Betreffs der Details der Versuchseinrichtung und der

Tabelle I.

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Körpergewicht g	Datum des Versuches	Harn ccm	Harn lufttrocken g	Kot feucht g	Kot lufttrocken g	N im Harn g
Ente A	VII	1	1204	17. III 13	120	1,65	22,2	5,21	0,58
		2	1185	18. III. 13	195	2,56	21,5	6,21	0,63
		3	1185	19. III. 13	260	2,34	23,0	5,79	0,60
		4	1190	20. III. 13	210	1,80	21,2	6,58	0,65
		5	1177	21. III. 13	220	1,96	23,0	5,31	0,63
		6	1182	22. III. 13	195	2,08	22,7	6,50	0,67
Mittelwerte:			**1187**		**200**	**2,06**	**22,3**	**5,93**	**0,63**
Ente A	VIII	7	1265	13. V. 13	290	1,64	23,5	6,08	0,53
		8	1279	14. V. 13	280	1,88	22,7	5,98	0,54
		9	1270	15. V. 13	250	1,84	22,9	6,04	0,69
		10	1262	16. V. 13	280	1,82	23,4	6,23	0,61
		11	1255	17. V. 13	270	2,06	24,6	5,64	0,72
		12	1257	18. V. 13	260	1,72	22,9	5,96	0,61
		13	1252	19. V. 13	230	1,69	22,6	5,85	0,61
Mittelwerte:			**1259**		**266**	**1,80**	**23,1**	**5,97**	**0,62**
Ente B	IX	14	1017	3. III. 13	210	1,98	22,5	5,58	0,58
		15	1020	4. III. 13	200	1,97	20,3	5,43	0,58
		16	995	5. III. 13	230	2,08	23,4	5,73	0,70
		17	1005	6. III. 13	200	1,92	27,8	5,63	0,58
		18	1009	7. III. 13	190	2,11	22,7	5,66	0,61
		19	1009	8. III. 13	210	2,24	22,8	5,76	0,64
		20	1007	9. III. 13	200	2,04	27,9	5,91	0,66
		21	1014	10. III. 13	170	1,72	23,9	5,29	0,59
		22	1015	11. III. 13	205	1,92	22,1	6,08	0,65
Mittelwerte:			**1010**		**202**	**2,00**	**23,6**	**5,67**	**0,62**
Ente B	X	23	1030	16. V. 13	190	2,20	22,7	6,08	0,77
		24	1028	17. V. 13	190	1,76	24,1	6,11	0,68
		25	1020	18. V. 13	210	1,62	21,3	6,00	0,61
		26	1020	19. V. 13	225	2,46	22,2	6,22	0,83
		27	1017	20. V. 13	190	2,20	21,5	6,09	0,72
		28	1010	21. V. 13	180	1,74	22,2	5,98	0,60
		29	1012	22. V. 13	210	1,80	22,9	6,36	0,60
		30	1010	23. V. 13	200	2,04	24,1	5,85	0,61
		31	1010	24. V. 13	180	1,88	23,2	6,22	0,62
Mittelwerte:			**1016**		**197**	**1,97**	**22,7**	**6,10**	**0,67**

[1]) Paul Hári und A. Kriwuscha, Weitere Beiträge zum Stoff- und Energieumsatz der Vögel. Diese Zeitschr. 88, 345, 1918.

Tabelle II.

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Stickstoff in 24 Stunden: Einfuhr g	Ausfuhr: im Harn g	Ausfuhr: im Kot g	Ausfuhr: zusammen g	resorbiert (Verd.-Koeffiz.) %	Chem. Energie in 24 Stunden: Einfuhr (a) kg-Cal	Ausfuhr: im Harn (b) kg-Cal	Ausfuhr: im Kot (c) kg-Cal	Ausfuhr: zusammen (b+c) kg-Cal	resorbiert (a—c) (Verd.-Koeffiz.) %	ausgenützt (a—b—c) (Phys. Nutzeff. d. Maises.) %	Mais pro 24 Stunden g
Ente A	VII	1—6	0,73	0,63	0,12	0,74	83,6	214,8	6,0	25,2	31,2	88,2	85,4	50
	VIII	7—13	0,78	0,62	0,10	0,72	87,2	195,1	4,8	25,3	30,1	87,0	84,8	50
Ente B	IX	14—22	0,73	0,62	0,11	0,73	84,9	214,8	5,4	23,6	29,0	89,0	86,5	50
	X	23—31	0,78	0,67	0,11	0,78	85,9	195,1	4,8	26,3	31,1	86,5	84,1	50
Huhn A	I		0,73	0,49	0,09	0,58	87,7	214,8	4,2	21,3	25,5	90,9	88,1	50
	II		0,73	0,53	0,10	0,63	86,3	214,8	5,1	21,8	26,9	89,9	87,4	50
Huhn B	III		0,88	0,71	0,21	0,92	76,2	257,7	7,0	36,9	43,9	85,7	82,9	60
	IV		0,73	0,61	0,14	0,75	80,8	214,8	6,0	29,5	35,5	86,2	83,4	50
Huhn C	V		0,73	0,54	0,08	0,62	89,0	214,8	4,0	21,0	25,0	90,2	89,0	50
Huhn D	VI		0,73	0,56	0,10	0,65	86,3	214,8	4,6	20,4	25,0	90,5	86,3	50
Frühere Entenversuche von P. Hári und A. Kriwuscha.														
Ente A	V	6 u. 7	0,78	0,66	0,11	0,77	85,9	195,1	5,1	27,1	32,2	86,1	83,5	50
Ente B	VI	8—10	0,78	0,64	0,13	0,77	83,3	195,1	4,9	26,1	31,0	86,6	84,1	50
Frühere Gänseversuche von P. Hári.														
Gans A	VII	20—21	0,89			0,95		201,6			38,4		81,0	50
	IX	25—26	1,78			1,51		403,3			68,3		83,1	100
	XI	30—32	1,78			1,21		403,3			79,6		80,2	100
Gans B	VIII	22—24	0,89			0,89		201,6			38,2		81,0	50
	X	27—29	1,78			1,20		403,3			65,4		83,8	100

Analysen sei, um Wiederholungen zu vermeiden, auf unsere frühere Arbeit[1]) verwiesen.

Die Enten sowohl als auch die Hühner erhielten täglich 50 g Mais und Wasser ad libitum, von dem die Enten in der Regel ca. 200 bis 300 ccm zu sich nahmen. Mit der Analyse der Entleerungen wurde natürlich immer erst nach Ablauf einer Vorperiode von 3 Tagen begonnen.

In Tabelle I sind die Daten über die tägliche Stickstoff-

[1]) K. Szalágyi und A. Kriwuscha, Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des Enten- und Hühnerharns. Diese Zeitschr. 66, 122.

ausscheidung im Harn und Kot und andere auf die Excremente bezügliche Daten von Ente A und B (je 2 Versuchsreihen) enthalten[1]).

Tabelle II enthält die innerhalb jeder Versuchsreihe für 24 Stunden berechneten Mittelwerte des Stickstoffumsatzes, der Energieeinfuhr im Mais, der Energieausfuhr im Harn und Kot; ferner die durch Berechnung aus obigen Daten erhaltenen Werte der Verdauungskoeffizienten des eingeführten Stickstoffs, der eingeführten chemischen Energie und den Nährwert des Maises sowohl in den Enten- als auch in den Hühnerversuchen.

Eine willkommene Ergänzung dieser Berechnungen ergab sich aus den bereits erwähnten Versuchen (Hári und Kriwuscha), die an denselben Enten unter denselben Versuchsbedingungen ausgeführt wurden, ferner auch aus den ebenfalls erwähnten Gänseversuchen von Paul Hári. In letzteren wurde N- und Energiegehalt im Harn und Kot nicht getrennt bestimmt; daher bloß der physiologische Nutzeffekt des Maises in der Gans berechnet werden konnte, doch weder der Verdauungskoeffizient des eingeführten N, noch der der eingeführten Energie.

Die Daten der letzterwähnten Enten- und Gänseversuche sind ebenfalls in Tabelle II aufgenommen.

Berechnen wir die an je einer Tierart von je einem Autor erhaltenen Mittelwerte und vergleichen wir dieselben mit den Ergebnissen früherer Autoren, so kommen wir zu folgendem Ergebnis.

Wie aus den Tabellen II und III ersichtlich, ist die Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Tierarten als eine überraschende zu bezeichnen. — Namentlich gilt dies für die Verdauungskoeffizienten des Stickstoffs und der chemischen Energie, etwas weiter stehen die Nährwerte des Maises bei den verschiedenen Tierarten auseinander. Es ist nicht unmöglich, daß die letzten größeren Unterschiede, teilweise durch

[1]) Leider sind die Tagesprotokolle der an den Hühnern ausgeführten Versuche während der inzwischen vergangenen Kriegsjahre abhanden gekommen; es haben sich nur die für 24 Stunden berechneten Mittelwerte innerhalb jeder Versuchsreihe vorgefunden.

Tabelle III.

Tierart	Verdauungskoeffizient des N %	Verdauungskoeffizient der chem. Energie %	Physiolog. Nutzeffekt des Maises %	Autor
Schwein	84,5	—	—	Wolff
„	86,0	—	—	Heiden
„	85,0	—	—	Goesmann
„	82,3	87,4	84,0	Zaitschek
„	84,4	88,5	—	Zaitschek
Ente . .	85,4	87,7	85,2	Szalágyi u. Kriwuscha
„	84,6	86,3	83,8	Hári und Kriwuscha
Huhn .	85,6	—	—	Paraschtschuk
„ .	84,4	88,9	86,4	Szalágyi u. Kriwuscha
Gans . .	—	—	81,8	Hári

Verschiedenheiten in der betreffenden Maisgattung (ob hart oder weich) bedingt sind, worauf leider in den meisten Versuchen, so auch in den unserigen, nicht geachtet wurde. In Zaitscheks Versuchen besteht ein ausgesprochener Unterschied in der Verdaulichkeit harten und weichen Maises.

Aus der Reihe der übrigen Hühnerversuche, sowie aus der sämtlicher anderer Versuche springt Versuchsreihe III, teilweise auch IV an Huhn B; für Versuchsreihe III mögen die wesentlich niedrigeren Werte von der relativ großen Maismenge verursacht sein, die das Tier erhielt; in Versuchsreihe IV, in der das Tier nicht mehr als die anderen erhielt, fällt dieses Erklärungsmoment weg.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. F. Tangl ausgeführt.

Über die Verbreitung des Aluminium-Ions in der Pflanzenwelt.

Von

Julius Stoklasa

unter Mitwirkung von **J. Šebor, W. Zdobnický, F. Týmich, O. Horák, A. Němec** und **J. Cwach.**

(Aus der Chemisch-physiol. Versuchsstation an der k. k. böhm. techn. Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 13. Februar 1918.)

Zu den interessantesten Problemen betreffs der Verbreitung und physiologischen Bedeutung der einzelnen biogenen Elemente in dem Pflanzenorganismus zählt unstreitig die Lösung der Frage hinsichtlich der Bedeutung und Verbreitung des Aluminiums. Dieses Element ist nach dem Sauerstoff und Silicium auf unserem Planeten am stärksten verbreitet und bildet einen Hauptbestandteil der festen Erdkruste. Wie wir in der letzten Zeit gefunden haben, ist den Aluminiumionen eine gewisse Rolle bei der Mechanik der Aufnahme der Aschenbestandteile durch das lebende Protoplasma bei dem Adsorptionsvorgang, sowie bei dem Wachstumsprozeß, und zwar in dem Stadium der Materialanhäufung und in dem Stadium der Streckung einer jeden Zelle zugewiesen.

Von anderer Seite wird behauptet, daß das Aluminium von der Pflanze nicht resorbiert wird, und falls es im Pflanzenorganismus vorhanden ist, einen akzessorischen Bestandteil der Zelle bildet und für den Aufbau und Betriebsstoffwechsel in der chlorophyllhaltigen und chlorophyllosen Zelle belanglos ist.

Unerwähnt darf hier nicht bleiben, daß viele dieser Unter-

suchungen an gewissen Kulturpflanzen ausgeführt wurden, ohne daß die edaphischen und bioklimatischen Faktoren, unter welchen sich die Pflanzen in der Natur entwickeln, berücksichtigt wurden. Es wurde zumeist nur der oberirdische Teil der Pflanzen zum Versuche herangezogen.

Beobachtet man aber die ökologischen Faktoren und ihre Wirkungen auf den Pflanzenorganismus näher, so merkt man erst, wie schwer sich die Ergebnisse der Forschungen, die an den einzelnen Kulturpflanzen angestellt wurden, auf die gesamte Pflanzenwelt generalisieren lassen.

Für die Mechanik der Aufnahme der Aluminiumionen sind die Eigenschaften des Bodens maßgebend, und zwar hängt sehr viel davon ab, ob sich die Pflanzen in ektodynamomorphen oder endodynamomorphen Böden mit verschiedener Feuchtigkeit entwickeln. Die Zellen der einzelnen Pflanzen resorbieren von den im umgebenden Medium gelösten Aluminiumionen nicht alle in gleichem Verhältnisse, sondern sie erweisen sich in verschiedenartigem Grade für das Aluminiumion durchlässig. In der Resorption der Aluminiumionen besteht entschieden ein quantitatives Wahlvermögen der einzelnen Pflanzen.

Schon seit längerer Zeit habe ich die Verbreitung des Aluminiums in dem Pflanzenreiche, sowie seine physiologische Bedeutung verfolgt und die Resultate meiner Untersuchungen, die in der letzten Zeit von meinen Mitarbeitern unterstützt wurden, haben ein neues Licht in der Bedeutung des Aluminiums bei dem gesamten Betriebsstoffwechsel der Pflanzen, namentlich der Hydrophyten, Hygrophilen, Mesophyten und Xerophyten gebracht.

Als man begann, das ernährungsphysiologische Problem zu lösen, wurde seitens der Physiologen und Biochemiker der Verbreitung des Aluminiumions in dem Pflanzenreiche eine größere Aufmerksamkeit zugewendet.

Der erste, der auf die Gegenwart von Aluminium in der Pflanzenasche hinwies, war der Begründer der Pflanzenernährungsphysiologie Theodor de Saussure[1]). Dieser Forscher hat viele quantitative chemische Analysen von höheren Pflanzen vorgenommen und konstatierte

[1]) Th. de Saussure, Recherches chimiques sur la végétation, Paris 1804.

schon damals, daß manche Pflanzen, namentlich Rhododendron ferrugineum, ein nennenswertes Quantum von Aluminium in der Asche aufweisen.

Daraufhin hat Thénard[1]), Berthier[2]), Berzelius, Salm-Horstmar[3]) und Boussingault[4]) über die Verbreitung des Aluminiums Untersuchungen vorgenommen.

Auch Aderholdt[5]), Wittstein[6]), Erdmann[7]), Ritthausen[8]), Solms-Laubach[9]), Struckmann[10]), Church[11]) befaßten sich mit der Lösung der Frage über die Verbreitung des Aluminiums im Pflanzenreiche.

Äußerst interessante Daten über die Verbreitung des Aluminiums in der Pflanzenwelt lieferten die Forschungen von Malaguti et Durocher[12]). Diese Forscher waren die ersten, welche die Hypothese ausgesprochen haben, daß gewisse Pflanzen zu ihrer Entwicklung Aluminium und Mangan benötigen und daß diesen beiden Elementen wahrscheinlich eine physiologische Funktion im Pflanzenorganismus zugewiesen ist.

Eine große Aufmerksamkeit wurde der Frage bezüglich der Verbreitung und Bedeutung des Aluminiums von den bekannten Forschern Berthelot et André[13]) zugewendet. Diese Forscher haben den Beweis geliefert, daß Aluminium in den Pflanzen in ziemlich großen Quantitäten vorkommt und daß namentlich die Flechten, sowie einige Leguminosen, wie Luzerne und Lupinen, das Aluminium aus dem Boden resorbieren und selbes meistens in der Wurzel der betreffenden Pflanzen anzutreffen ist.

Bei kritischen Studien der Ansichten über die Verbreitung des

---

[1]) Thénard, Traité de Chimie élémentaire, théorique et pratique, Paris 1833 bis 1836.

[2]) Berthier, Ann. de chim. et de phys. **32**, 248.

[3]) Salm-Horstmar, Journ. f. prakt. Chem. **40**, 1847.

[4]) Boussingault, Économie rurale **1**, Paris 1851.

[5]) Aderholdt, Ann. d. Chem. u. Pharm. **82**, 111, 1852.

[6]) Wittstein, Erdmanns Journ. **40**, 254, 1847; Ann. Chem. Pharm. **108**, 1858; Arch. Pharm. 2e s., **3**, 1862.

[7]) Erdmann, Erdmanns Journ. **38**, 347.

[8]) Ritthausen, Erdmanns Journ. **58**, 133 u. Journ. f. prakt. Chem. **53**, 1851.

[9]) Solms-Laubach, Ann. d. Chem. u. Pharm. **100**, 1856.

[10]) Struckmann, Ann. d. Chem. u. Pharm. **98**, 143.

[11]) A. H. Church, Chem. News. **30**, 1847; Journ. Botany **4**, 1875; Proc. Royal Soc. London **44**, 1888.

[12]) Malaguti et Durocher, Annales de Chimie et de Physique **44**, 257, 1858.

[13]) Berthelot et André, Compt. rend. Acad. Sc. **120**, 1895. — Berthelot, M., Chimie végétale et agricole, Paris 1899.

Aluminiumions von Peligot[1]), Dehérain[2]), Müntz et Schloesing[3]), Dumington[4]), F. Sestini[5]), L. Ricciardi[6]), C. J. H. Warden[7]), J. Maiden et H. Smith[8]), C. H. Lawall[9]), H. Snyder[10]), H. Coupin[11]), Yoshida[12]), Councler[13]), Smith[14]) findet man so differierende Ansichten über die Verbreitung und Bedeutung des Aluminiums in den Pflanzen, daß man sich gar kein wahres Bild davon zu machen vermag.

Nachdem meistens nur der oberirdische Teil der Pflanzen analysiert und in dem Wurzelsystem das Aluminium überhaupt nicht bestimmt wurde, geben uns die früheren Analysenergebnisse keinen endgültigen Bescheid von der Verbreitung und Bedeutung des Aluminiums in der Pflanzenwelt.

Langworthy and Austen[15]) publizierten eine Zusammenstellung der Resultate der Aschenanalyse der Pflanzen bis zum Jahre 1904.

In demselben Jahre wurde auch von Radlkofer[16]) nachgewiesen, daß die Asche der Blätter von Symplocosarten eine größere Menge von Aluminiumoxyd enthält, und zwar bis 48%. Radlkofer hat schon damals darauf aufmerksam gemacht, daß in der Natur spezielle Arten von Aluminiumpflanzen existieren, die in der Asche des oberirdischen Teiles eine beträchtlichere Menge von Aluminium aufweisen.

Die Arbeit von H. Pellet et Ch. Fribourg[17]) bringt eine alpha-

---

[1]) E. Peligot, Traité de Chimie analytique appliquée à l'agriculture 1883.

[2]) P. Dehérain, Traité de Chimie agricole, 3e édition, Paris 1902.

[3]) Müntz et Schloesing, Contribution à l'étude de la Chimie agricole, Paris 1885; Müntz, Les Engrais **1**, 38.

[4]) J. Dumington, Am. Ch., S. **1886**, 24.

[5]) F. Sestini, Gaz. Chim. Ital. **1885**, 107.

[6]) L. Ricciardi, Gaz. Chim. Ital. **1889**, 151.

[7]) C. J. H. Warden, Chemical News **1891**.

[8]) J. Maiden et H. Smith, Journ. and Proc. Roy. Soc. of New-South Wales **1895**, 325.

[9]) C. H. Lawall, American J. Ph. **1897**.

[10]) H. Snyder, Chemistry of Plants and Animal Life **1903**.

[11]) H. Coupin, Compt. rend. Ac. des Sc. **1901**, 645.

[12]) H. Yoshida, Journ. Chem. Soc. **1**, 1887.

[13]) Councler, Bot. Centralbl. **40**, 1889.

[14]) H. G. Smith, Chem. News. **88**, 1903.

[15]) Langworthy and Austen, The occurrence of Aluminium in vegetable products, animal products, and natural waters. London and New York 1904.

[16]) L. Radlkofer, Über Tonerdekörper in Pflanzenzellen. Berichte d. deutsch. botan. Gesellschaft **22**, 1904.

[17]) H. Pellet et Ch. Fribourg, De l'Alumine dans les plantes. Extrait des Annales de la Science agronomique française et étrangère, 3e série. 2de année **2**, 1907.

betisch geordnete Zusammenstellung aller Pflanzenteile, die untersucht wurden, in welchen Aluminium bestimmt wurde.

Die in der Literatur vorkommenden Aschenanalysen und die Angabe über den Aluminiumgehalt bieten kein Kriterium für die Verbreitung des Aluminiums in der Pflanzenwelt. Die Daten sind so widersprechend, daß man sich kein klares Bild über den Gehalt an Aluminiumion der einzelnen Pflanzenarten vorstellen kann. Ich verweise hier nur auf die verschiedenen Angaben über den Aluminiumgehalt des Lycopodiums.

Über den mikrochemischen Nachweis und die Verbreitung des Aluminiums im Pflanzenreiche hat Ernst Kratzmann[1]) an dem pflanzenphysiologischen Institut an der Universität in Wien Versuche ausgeführt.

Zu dem mikrochemischen Nachweis von Aluminium mischte Kratzmann gleiche Mengen einer zweimolekularen Lösung von CsCl und einer achtmolekularen von H_2SO_4 zu dem fertigen Reagens, das, wie sich Kratzmann überzeugte, vorzügliche Dienste leistete.

Mittels dieser Reaktion wurden von ihm gegen 130 Pflanzen aus den verschiedensten Familien auf Aluminium geprüft. Auf Grund dieser Untersuchung muß das Aluminium für einen im Pflanzenreich ungemein weitverbreiteten Körper erklärt werden, ja manche Pflanzen enthalten so viel Aluminium, daß man sie geradezu als Aluminiumpflanzen bezeichnen kann. Eine quantitative Bestimmung von Aluminium hat Kratzmann nicht ausgeführt, auch den Aluminiumgehalt in dem Wurzelsystem hat er nicht festgestellt.

Ich habe schon im Jahre 1911 in meiner Arbeit[2]) auf die antagonistische Wirkung des Aluminiumions und die gegenseitige Hemmung in der Aufnahme zweier in gleichem Sinne geladener Ionen aufmerksam gemacht. Schwache Konzentrationen von Aluminiumion hemmen verhältnismäßig die Aufnahme des Mangan- und Eisenions.

Josef Szücs[3]) hat merkwürdigerweise meine Versuche wiederholt, jedoch die Resultate meiner Untersuchungen nicht angeführt.

Ferner haben Molisch, Rothert, Fluri und Kratzmann das Problem über die physiologische Wirkung des Aluminiumions im Organismus der Pflanze zu lösen versucht, und wiewohl diese Arbeiten[4])

---

[1]) Ernst Kratzmann, Der mikrochemische Nachweis und die Verbreitung des Aluminiums im Pflanzenreiche. Sitzungsberichte d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Klasse **122**, Abtl. I, Febr. 1913.

[2]) Julius Stoklasa, De l'importance physiologique du manganèse et de l'aluminium dans la cellule végétale. Comptes rend. **1**, 1340, 1911.

[3]) Joseph Szücs, Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik **1913**.

[4]) Auf diese Arbeiten kommen wir noch im folgenden Kapitel ausführlich zurück.

viel Interessantes geboten haben, zur Lösung des Problems haben sie aber nicht geführt.

Die physiologische Bedeutung des Aluminiumions verlangt ein tieferes Studium, um sich eine klare Vorstellung machen zu können, wie sich das Aluminiumion bei dem Bau- und Betriebsstoffwechsel in der chlorophyllhaltigen und chlorophylllosen Zelle de facto verhält, was uns veranlaßte, neue Studien anzustellen.

Bevor wir zur Schilderung schreiten, was für physiologische Rolle dem Aluminium zugewiesen ist, ist es wichtig, uns ein Bild über die Verbreitung des Aluminiumions in dem Pflanzenreiche zu verschaffen.

Schon 26 Jahre beschäftige ich mich mit dem Studium der Verbreitung des Aluminiums in dem Pflanzenreiche und sammelte zu diesem Behufe hydrophile, hygrophile, mesophile und xerophile Pflanzen in verschiedenen Orten Europas. Die Meerespflanzen sammelte ich bei Kiel, Helgoland, auf der Halbinsel Hela, in Zoppot bei Danzig, Amsterdam, Ostende, in der Umgebung von Nantes (S. Nazaire), an der französischen Riviera bei Monte Carlo, Nizza, Cap Martin, Mentone, Cannes, ferner in der Umgebung von Abbazia, Fiume, Triest, Venedig, Neapel, Insel Capri.

Die xerophile Flora, die Flora der Alpen sammelte ich in Steiermark, Kärnten, Krain, Istrien, in der Schweiz und in der Umgebung von Grenoble. Viele Exemplare wurden von dem berühmten botanischen Garten „La Mortola“ bei Mentone zur Verfügung gestellt. Weiter habe ich viele Hydrophyten und Hygrophilen dem größten Moor Österreichs, und zwar dem Laibacher Moor, entnommen. Selbstverständlich wurden auch die Pflanzen in Böhmen, Mähren und Galizien zu unseren Versuchen herangezogen. Die Pflanzen wurden gut gereinigt, namentlich das Wurzelsystem von dem ihm anhaftenden Boden befreit, an der Luft getrocknet und daraus das Material für die chemische Analyse zubereitet.

In der Pflanzensubstanz wurde zuerst die Trockensubstanz und die Reinasche bestimmt. In der Reinasche wurde dann der Gehalt an Aluminiumoxyd und Eisenoxyd neben der Phosphorsäure ermittelt.

Der Aluminiumgehalt der Xerophyten.

In den Tabellen I, II, III und IV sind die Analysen von den Xerophyten angegeben. Die angeführten Zahlen sind Durchschnitte von den Analysen der Pflanzen von verschiedenen Fundorten. Die höher organisierten Pflanzen wurden meistens im Blütenzustande analysiert. Die Differenzen, die sich in

Tabelle I.
Xerophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
1.	Parmelia saxatilis					
	Ganze Pflanze	3,14	0,38	10,64	0,011	0,334
2.	Rinodina oreina					
	Ganze Pflanze	4,53	0,42	3,13	0,019	0,141
3.	Rhizocarpon geographicum					
	Ganze Pflanze	3,41	0,33	1,57	0,011	0,053
4.	Riccia Bischoffii					
	Ganze Pflanze	3,64	0,42	1,14	0,015	0,041
5.	Woodsia ilvensis					
	Wurzelstock	2,65	0,48	1,09	0,012	0,028
	Oberirdischer Teil	3,53	0,26	2,10	0,009	0,074
6.	Woodsia alpina					
	Wurzelstock	2,04	0,38	0,97	0,007	0,019
	Oberirdischer Teil	3,93	0,31	1,86	0,012	0,073
7.	Asplenium trichomanes					
	Wurzelstock	2,54	0,27	1,29	0,006	0,032
	Oberirdischer Teil	3,14	0,14	2,52	0,004	0,079
8.	Ruta muraria					
	Wurzelstock	3,68	0,42	1,63	0,015	0,059
	Oberirdischer Teil	4,89	0,16	1,85	0,007	0,090
9.	Allosurus crispus					
	Wurzelstock	2,52	0,37	0,73	0,009	0,018
	Oberirdischer Teil	5,26	0,30	1,28	0,015	0,067
10.	Juniperus communis					
	Wurzeln	3,76	0,32	3,51	0,012	0,131
	Zweige (mit Rinde u. Holz)	2,45	Spuren	1,84	—	0,045
	Blätter	6,28	0,16	2,39	0,010	0,150
11.	Polygonatum officinale					
	Wurzelstock	0,94	0,49	1,47	0,004	0,013
	Oberirdischer Teil	2,69	0,21	3,78	0,005	0,101
12.	Iris bohemica					
	Wurzelstock	1,98	0,22	0,29	0,004	0,005
	Oberirdischer Teil	4,07	Spuren	0,63	—	0,025

Tabelle II.
Xerophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
13.	Stipa capillata					
	Wurzeln	2,82	0,39	0,42	0,010	0,011
	Oberirdischer Teil	5,14	0,18	0,85	0,009	0,043
14.	Stipa pennata					
	Wurzeln	1,92	0,57	0,51	0,010	0,009
	Oberirdischer Teil	4,04	0,26	1,52	0,010	0,061
15.	Psamma arenaria					
	Wurzelstock	2,10	0,23	0,66	0,004	0,013
	Oberirdischer Teil	2,84	0,36	2,74	0,010	0,077
16.	Agropyrum junceum					
	Wurzelstock	2,05	0,32	0,59	0,006	0,012
	Oberirdischer Teil	2,86	0,18	1,13	0,005	0,032
17.	Corynephorus canescens					
	Wurzelstock	1,76	0,46	0,93	0,008	0,016
	Oberirdischer Teil	1,94	Spuren	0,87	—	0,016
18.	Polygonum viviparum					
	Wurzelstock	1,43	0,32	0,92	0,004	0,013
	Oberirdischer Teil	2,00	0,11	1,43	0,002	0,028
19.	Spergula arvensis					
	Wurzeln	2,63	0,63	1,27	0,016	0,033
	Oberirdischer Teil	2,52	0,38	1,08	0,009	0,027
20.	Silene inflata					
	Wurzeln	1,60	0,36	0,55	0,005	0,008
	Oberirdischer Teil	1,78	Spuren	0,83	—	0,014
21.	Anemone narcissiflora					
	Wurzelstock	2,19	0,45	0,73	0,009	0,015
	Oberirdischer Teil	2,36	Spuren	0,96	—	0,022
22.	Biscutella laevigata					
	Wurzeln	1,98	0,30	2,06	0,005	0,040
	Oberirdischer Teil	2,35	0,25	3,74	0,005	0,087
23.	Alyssum saxatile					
	Wurzeln	3,54	0,41	0,98	0,014	0,034
	Oberirdischer Teil	3,66	Spuren	2,65	—	0,096

der Reinasche, sowie in dem Aluminiumoxyd- und Eisenoxyd-Gehalt der Reinasche ergeben haben, waren ganz unwesentlich, wiewohl sich die Pflanzen auf verschiedenartigen Gesteinen, und zwar auf Eruptivgesteinen, schichtigen Gesteinen und krystallisiertem Schiefer entwickelten. Auch die Sandstrandvegetation, Dünenvegetation und Alpinenxerophyten, Gebüsche usw. von verschiedenen Fundorten haben in dem Aluminiumiongehalt merkwürdigerweise keine großen Unterschiede aufgewiesen.

Tabelle III.

Xerophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
24.	Saxifraga granulata					
	Wurzeln	5,48	0,58	1,37	0,031	0,075
	Oberirdischer Teil	6,11	0,52	2,98	0,031	0,182
25.	Anthyllis vulneraria					
	Wurzeln	2,29	0,42	0,98	0,009	0,022
	Oberirdischer Teil	2,53	0,57	1,54	0,014	0,038
26.	Ornithopus sativus					
	Wurzeln	3,02	0,25	2,19	0,007	0,066
	Oberirdischer Teil	3,04	Spuren	2,64	—	0,080
27.	Crozophora tinctoria					
	Wurzeln	1,53	„	0,84	—	0,012
	Oberirdischer Teil	1,78	„	2,69	—	0,047
28.	Euphorbia Cyparissias					
	Wurzeln	4,48	0,39	5,06	0,017	0,226
	Zweige	2,66	0,31	1,57	0,008	0,041
	Blätter	3,57	Spuren	1,82	—	0,064
29.	Crithmum maritimum					
	Wurzeln	1,62	„	1,67	—	0,027
	Oberirdischer Teil	1,51	„	2,09	—	0,031
30.	Gentiana acaulis					
	Wurzeln	2,19	0,28	0,64	0,006	0,014
	Oberirdischer Teil	2,57	0,35	0,97	0,008	0,024
31.	Myosotis stricta					
	Wurzeln	2,18	0,18	1,11	0,003	0,024
	Oberirdischer Teil	4,09	0,25	1,64	0,010	0,067
32.	Echium vulgare					
	Wurzelstock	1,25	Spuren	2,38	—	0,029
	Oberirdischer Teil	1,63	„	3,16	—	0,051
33.	Antirrhinum Orontium					
	Wurzeln	3,79	0,27	1,64	0,010	0,062
	Oberirdischer Teil	4,52	0,31	2,05	0,014	0,092

Die physikalischen Eigenschaften des Bodens und bioklimatischen Verhältnisse, die für den Aufbau der Xerophyten von ungeheurer Bedeutung sind, bilden den wichtigsten Vegetationsfaktor.

Die Xerophyten sind Pflanzen, die sich morphologisch und anatomisch von den Hydrophyten wesentlich unterscheiden. Sie vertragen eine dauernde und lange Trockenheit, nachdem sie die Eigenschaft aufweisen, die Transpirationen während der kritischen Zeit auf das Minimum herabzusetzen. Sie besitzen

Tabelle IV.

Xerophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
34.	Globularia vulgaris					
	Wurzeln	2,52	Spuren	0,83	—	0,020
	Oberirdischer Teil	3,64	"	0,97	—	0,035
35.	Plantago arenaria					
	Wurzeln	0,92	"	2,14	—	0,019
	Oberirdischer Teil	1,84	"	1,66	—	0,030
36.	Scabiosa ochroleuca					
	Wurzeln	1,73	"	2,05	—	0,035
	Oberirdischer Teil	1,65	"	1,77	—	0,029
37.	Aster alpinus					
	Wurzeln	1,47	"	0,65	—	0,009
	Oberirdischer Teil	1,35	"	1,32	—	0,017
38.	Leontopodium alpinum					
	Wurzeln	3,05	0,23	2,06	0,007	0,062
	Oberirdischer Teil	2,92	0,25	2,47	0,007	0,072
39.	Doronicum austriacum					
	Wurzeln	1,65	Spuren	1,53	—	0,025
	Oberirdischer Teil	1,94	"	1,69	—	0,032
40.	Hieracium alpinum					
	Wurzeln	2,09	"	0,73	—	0,015
	Oberirdischer Teil	2,15	"	1,04	—	0,022

eigentümliche Blatt- und Sproßformen mit geringer Oberfläche, und das Mesophyll zeichnet sich durch eine starke Entwicklung des Palisadengewebes aus. Die Trockensubstanz der Blätter von den Xerophyten ist viel reicher an Chlorophyll als jene von den Hydrophyten und Hygrophyten[1]). Die photosynthetische Assimilation geht bei ersteren, wie wir gefunden haben, viel energischer vor sich als bei den Hygrophyten und Hydrophyten. Auch die Dissimilationsprozesse verlaufen bei den Xerophyten in intensiverer Weise als bei den Hygrophilen und Hydrophyten. Die Xerophyten vermögen aus der Luft die Wasserdämpfe und die Feuchtigkeit aufzunehmen. Die Wasseraufnahme durch unterirdische Organe geht durch tiefgehende Wurzeln vor sich. Sie entnehmen das notwendige Wasser für

[1]) Der Chlorophyllgehalt der Blätter der Xerophyten und Hydrophyten wird in einer speziellen Arbeit behandelt.

ihren gesamten Bau- und Betriebsstoffwechsel mehr dem Tau und Nebel als dem Regen, was namentlich von der Felsenvegetation gilt.

Die anatomischen Eigentümlichkeiten, durch die sich die Wurzeln der Xerophyten gegenüber den anderen Pflanzen unterscheiden, äußern sich in einer dünnwandigen Epidermis der jungen tätigen Wurzelteile. Die starke Entwicklung der Endodermis (Schutzscheide) bei Monokotylen und des Korks bei Dikotylen ist wohl als Schutzmittel des Zentralzylinders der Wurzel gegen Wasserverlust und gegen mechanischen Druck aufzufassen.

Wenn wir die Menge der Reinasche in Betracht ziehen, die die Trockensubstanz der Xerophyten aufweist, merken wir, daß dieselbe verhältnismäßig kleiner ist als bei den Hydrophyten. Die Flechten (Lichenes), und zwar Parmelia saxatilis, Rinodina oreina, Rhizocarpon geographicum, Riccia Bischoffii enthalten in der Trockensubstanz 3,14 bis 4,53 °/₀ Reinasche. Die höher organisierten Pflanzen, wie die Filices, weisen in der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles immer mehr Reinasche auf, als jene des Wurzelstockes. Der Gehalt an Reinasche schwankt bei der Trockensubstanz des Wurzelstockes zwischen 2,04 und 3,68 °/₀, bei der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles zwischen 3,14 und 5,26 °/₀. Von den Gymnospermen ist hier Juniperus communis anzuführen, dessen Trockensubstanz der Wurzeln 3,76 °/₀, der Zweige 2,45 °/₀ und der Blätter 6,28 °/₀ Reinasche enthält.

Bei den anderen xerophilen Pflanzen ist der oberirdische Teil immer reicher an Reinasche als der Wurzelstock, oder die Wurzeln. Im allgemeinen ist der Gehalt an Reinasche nicht bedeutend. Wir fanden in der Trockensubstanz des Wurzelstockes von Plantago arenaria als minimalsten Reinaschegehalt 0,92 °/₀, in der Trockensubstanz des Wurzelstockes von Polygonatum officinale 0,94 °/₀. Der größte Gehalt an Reinasche war bei Saxifraga granulata zu verzeichnen, dort betrug er in der Trockensubstanz der Wurzeln 5,48 °/₀. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles war bei Saxifraga granulata ein ziemlich großer Gehalt an Reinasche anzutreffen, dort betrug er

6,11 %. Noch einen größeren Reinaschegehalt wies Saxifraga oppositifolia auf, die in der Trockensubstanz der Wurzeln 6,73 % Reinasche und in der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles 7,20 % Reinasche enthielt.

Erwähnenswert ist auch, daß die Reinasche der Blätter von Xerophyten reich an Phosphat-, Kalium-, Calcium- und Magnesiumion ist. Die Reinasche der Wurzeln oder des Wurzelstockes ist reich an Silicat-, Kalium-, Calcium- und Magnesiumion. Die Xerophyten, beispielsweise Stipa pennata, Avena desertorum, Festuca duriuscula usw. sind Pflanzen, bei denen in der Reinasche entweder Anionen, und zwar Silicat- und Phosphation, hervortreten, oder bei einer anderen Gruppe, wie zum Beispiel bei Alyssum saxatile, Gentiana acaulis, Plantago arenaria usw. Calcium-, Magnesium- und Kaliumion in den Vordergrund treten.

Interessant war auch die Menge von Alumiumoxyd und Eisenoxyd in der Trockensubstanz der einzelnen Pflanzenorgane zu beobachten. Hervorgehoben zu werden verdient die Tatsache, daß die höher organisierten Xerophyten in den unterirdischen, sowie oberirdischen Organen ganz minimale Quantitäten von Aluminiumion aufweisen.

Die Lichenes enthalten in der Trockensubstanz 0,011 bis 0,019 % Al_2O_3, die Filices in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 0,006 bis 0,015 % Al_2O_3. Die Trockensubstanz des oberirdischen Teiles wies 0,004 bis 0,015 % Al_2O_3 auf. Bei vielen Xerophyten waren sowohl in der Trockensubstanz der Wurzeln als auch des oberirdischen Teiles nur Spuren von Aluminiumion konstatierbar. In den Wurzeln, oder Wurzelstock vieler anderer Pflanzen waren in der Trockensubstanz 0,003 bis 0,017 % Al_2O_3 vorhanden. In dem oberirdischen Teil befanden sich in einem Falle als minimalste Menge 0,002 % Aluminiumoxyd, sonst aber bewegte sich die Aluminiumoxydmenge zwischen 0,005, 0,01 bis 0,014 %. Die größte Menge von Aluminiumoxyd war bei Saxifraga granulata zugegen. In der Trockensubstanz der Wurzeln befanden sich 0,031 %, in jener des oberirdischen Teiles dieselbe Menge von Aluminiumoxyd.

Das Eisenion ist in bedeutend größeren Mengen vertreten als das Aluminiumion.

Bei den Lichenes waren 0,041 bis 0,334 % Eisenoxyd zu konstatieren.

Bei den Filices war in der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles immer eine größere Menge von Eisenion zugegen als in der Trockensubstanz des Wurzelstockes. Die Eisenoxydmenge variierte in

der Trockensubstanz des Wurzelstockes von 0,018 bis 0,059 %. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles waren 0,067 bis 0,09 % Eisenoxyd vorhanden.

Bei den anderen Pflanzen befand sich in der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles stets mehr Eisenion als in jener des Wurzelstockes, oder der Wurzeln. Die kleinste Eisenoxydmenge, die im unterirdischen Teil konstatiert wurde, betrug 0,005 %. Dieses Quantum kommt aber nur selten vor, zumeist bewegen sich die Eisenoxydmengen im unterirdischen Teil zwischen 0,01 bis 0,03 %, und steigt in der Trockensubstanz der Wurzeln von Euphorbia Cyparissius auf 0,226 %.

In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles wurde als kleinste Eisenoxydmenge, und zwar 0,014 % bei Silene inflata, die größte Menge, 0,182 %, bei Saxifraga granulata festgestellt.

Nicht minder von Interesse ist der Gehalt an Aluminiumion und Eisenion in den einzelnen Bestandteilen der Pflanzen zu verfolgen. Bei Juniperus communis war in der Trockensubstanz der Wurzeln 0,012 % Aluminiumoxyd und 0,131 % Eisenoxyd, in den Zweigen und Holz bloß Spuren von Aluminiumoxyd und 0,045 % Eisenoxyd und in den Blättern 0,01 % Aluminiumoxyd und 0,15 % Eisenoxyd vorhanden.

Ferner wurden ganze Analysen von Spergula arvensis vorgenommen.

In der Trockensubstanz der Wurzeln wurden 0,016 % Aluminiumoxyd, in jener der Blätter 0,009 % Aluminiumoxyd und in jener der Blüte und Samen Spuren von Aluminiumoxyd konstatiert.

Bei der Pflanze Anthyllis vulneraria wurden in der Trockensubstanz der Wurzeln 0,009 % Aluminiumoxyd, in jener der Blätter 0,018 % Aluminiumoxyd, in jener der Blüte 0,005 % Aluminiumoxyd und in den Samen Spuren von Aluminiumoxyd gefunden.

Weiter wurde auch die Blüte von Alyssum saxatile analysiert. Es wurden in der Blüte und Samen nur Spuren von Aluminiumoxyd nachgewiesen. Auch bei Ornithopus sativus wurden in der Trockensubstanz der Blüten nur Spuren von Aluminiumion ermittelt, in den Samen war aber überhaupt kein Aluminium konstatierbar.

Auch bei Echium vulgare und Silene acaulis konnte man in der Blüte und auch in den Samen nur Spuren von Aluminium feststellen.

Eigentümlich verhält sich die Vegetation des Sandstrandes und der Dünen, und zwar die Artemisia-, Stupaarten und Rapistrum perenne. Gewöhnlich findet man in den kriechenden Rhizomen oder Wurzeln in der Trockensubstanz Aluminiumoxyd, und zwar steigt die Menge bis

auf 0,02 %. Die Blätter, Blüten und der Samen haben bloß Spuren von Aluminiumion aufgewiesen. Dies ist bei Triticum junceum, Hordeum arenarium, Convolvulus- und Euphorbia-Arten auch der Fall. Der Aufbau der lebenden Substanz der Xerophyten, der unter schwierigen Bedingungen der Wasserversorgung vor sich geht und deren morphologische Struktur, sowie das eigentümliche physiologische Verhalten mußte jedenfalls einen großen Einfluß haben auf die Mechanik der Aufnahme der Aschenbestandteile. Die Wasserökonomik bei den Xerophyten spiegelt sich am deutlichsten bei dem quantitativen Wahlvermögen der Anionen und Kationen durch das Wurzelsystem. In den Böden, die eine ungenügende Feuchtigkeit aufweisen, namentlich in den Böden der trockenen Steppen, ist die Hydrolyse der Aluminiumsilicate äußerst gering. Die biochemischen Prozesse verlaufen zu schwach, um die nötige Kohlensäure, oder organischen Säuren zu produzieren, die dann die Aluminiumsilicate zersetzen.

Man könnte annehmen, daß infolgedessen das schwerlösliche Aluminiumion von dem Wurzelsystem der Xerophyten verhältnismäßig schwach resorbiert wird.

Aber diese Annahme ist nicht gerechtfertigt. Wie wir aus unseren weiteren Versuchen über die Resorption des Aluminiumions ersehen werden, sind die Xerophyten in dem Nährmedium gegen Aluminiumion ungemein empfindlich, und schon ganz minimale Quantitäten von Aluminiumion, die bei den Hydrophyten und Hygrophilen den Wachstumsprozeß unterstützen, wirken schon auf das Protoplasma vieler Xerophyten toxisch. Es ist dies eine individuelle physiologische Eigenschaft der Xerophyten, daß das Aluminiumion aus dem Boden in ganz geringen Quantitäten resorbiert wird.

Aus unseren ganzen Beobachtungen geht hervor, daß sich die Organe der Xerophyten, und zwar die Wurzeln, der Wurzelstock, die Blätter usw., durch einen kleinen Aluminiumiongehalt kennzeichnen, die Blüte, sowie der Samen höchstens Spuren von Aluminiumoxyd aufweisen.

Einen ganz anderen Charakter wie die Xerophyten besitzen die Hydrophyten und Hygrophilen.

Hydrophyten und Hygrophilen.

Die Ökologie der hydrophyten und hygrophilen Pflanzen unterscheidet sich wesentlich von jener der Xerophyten. Es sind das Gewächse, deren Existenzbedingungen die Gefahr des Austrocknens ausschließen und die daher allerlei Vorrichtungen zur Beschleunigung der Wasserabgabe aufweisen. Bei dieser extremen Vegetation, deren Pflanzen entweder ganz, oder größ-

Tabelle V.
Hydrophyten und Hygrophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
1.	Oedogonium capillare Ganze Pflanze	15,85	1,640	0,69	0,2599	0,109
2.	Ulva lactuca Ganze Pflanze	14,07	0,725	0,43	0,1020	0,060
3.	Bryopsis sp. Ganze Pflanze	17,14	8,25	0,53	1,414	0,090
4.	Halimeda opuntia Ganze Pflanze	19,88	7,14	0,58	1,419	0,115
5.	Laminaria digitata Ganze Pflanze	18,31	5,38	1,03	0,985	0,188
6.	Alaria sp. Ganze Pflanze	16,57	8,01	2,92	1,327	0,483
7.	Fucus vesiculosus Ganze Pflanze	16,42	6,86	0,67	1,126	0,110
8.	Sargassum bacciferum Ganze Pflanze	18,83	8,03	0,45	1,512	0,084
9.	Delesseria sp. Ganze Pflanze	23,44	9,95	0,66	2,332	0,154
10.	Plocamium sp. Ganze Pflanze	20,34	6,65	0,92	1,352	0,187
11.	Chara hispida Ganze Pflanze	19,37	4,48	0,65	0,867	0,125
12.	Collema rupestre Ganze Pflanze	11,75	7,32	1,98	0,860	0,232
13.	Cetraria islandica Ganze Pflanze	10,05	5,83	2,06	0,585	0,207
14.	Marchantia polymorpha Ganze Pflanze	12,52	3,17	0,48	0,396	0,060
15.	Fegatella conica Ganze Pflanze	10,18	4,65	0,73	0,473	0,074
16.	Aneura pinguis Ganze Pflanze	8,16	5,29	1,16	0,431	0,094

Tabelle VI.

Hydrophyten und Hygrophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trocken-substanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
17.	Plagiochila asplenoides					
	Ganze Pflanze	9,36	4,08	2,27	0,381	0,212
18.	Climacium dendroides					
	Ganze Pflanze	10,82	3,67	1,95	0,397	0,210
19.	Drepanocladus fluitans					
	Ganze Pflanze	8,05	4,40	2,05	0,354	0,165
20.	Hypnum cuspidatum					
	Ganze Pflanze	7,86	5,71	3,21	0,448	0,252
21.	Sphagnum cymbifolium					
	Ganze Pflanze	7,39	6,99	6,18	0,516	0,456
22.	Sphagnum acutifolium					
	Ganze Pflanze	6,88	5,65	9,44	0,388	0,649
23.	Sphagnum Lindbergii					
	Ganze Pflanze	6,14	6,27	8,75	0,384	0,537
24.	Aspidium Filix mas.					
	Wurzelstock	8,38	9,51	4,42	0,796	0,370
	Oberirdischer Teil	3,24	0,97	2,86	0,031	0,092
25.	Aspidium Thelypteris					
	Wurzelstock	9,57	6,83	4,97	0,653	0,475
	Oberirdischer Teil	3,36	0,59	3,09	0,019	0,103
26.	Cystopteris fragilis					
	Wurzeln	6,72	4,50	0,89	0,302	0,059
	Oberirdischer Teil	5,16	1,21	2,33	0,062	0,120
27.	Polypodium vulgare					
	Wurzelstock	7,02	6,84	2,27	0,480	0,159
	Oberirdischer Teil	4,29	1,53	2,84	0,065	0,121
28.	Blechnum Spicant					
	Wurzeln	5,48	6,32	1,63	0,346	0,089
	Oberirdischer Teil	5,99	1,74	0,98	0,104	0,058
29.	Osmunda regalis					
	Wurzelstock	6,05	6,19	2,38	0,374	0,143
	Oberirdischer Teil	6,02	4,43	0,76	0,266	0,045

tenteils von Wasser umgeben sind, oder in einem sehr wasserreichen Boden wachsen, gehen die Stoffwechselprozesse ganz anders vor sich, wie bei den. Xerophyten. Einige dieser Pflanzen (wie der Algentypus), die in Wasser untergetaucht sind, vermögen durch ihre Oberfläche das Wasser und die gelösten Ionen und Kationen aufzunehmen. Eine Transpiration bei den Hydrophyten ist ganz ausgeschlossen. Das Kohlendioxyd wird bei den Wasserpflanzen, die in salzigem, oder

Tabelle VII.

Hydrophyten und Hygrophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
30.	Osmunda spectabilis					
	Wurzelstock	5,69	6,88	3,64	0,391	0,207
	Oberirdischer Teil	4,17	2,65	1,27	0,110	0,052
31.	Lygodium volubile					
	Wurzelstock	6,94	4,12	2,32	0,285	0,161
	Oberirdischer Teil	6,63	1,58	3,69	0,104	0,244
32.	Ophioglossum vulgatum					
	Wurzeln	7,65	5,88	3,07	0,449	0,234
	Oberirdischer Teil	5,81	1,01	3,47	0,058	0,201
33.	Equisetum arvense					
	Wurzelstock m. Nebenwurz.	24,34	7,14	2,35	1,737	0,571
	Oberirdischer Teil	16,86	2,05	1,73	0,345	0,291
34.	Equisetum silvaticum					
	Wurzelstock m. Nebenwurz.	21,29	8,34	2,85	1,775	0,606
	Oberirdischer Teil	18,05	2,65	1,47	0,478	0,265
35.	Lycopodium clavatum					
	Kriechender Stengel mit Nebenwurzeln	16,73	32,64	3,88	5,460	0,649
	Oberirdischer Teil	6,28	29,37	4,02	1,844	0,252
36.	Lycopodium inundatum					
	Kriechender Stengel mit Nebenwurzeln	17,15	38,87	4,61	6,666	0,790
	Oberirdischer Teil	6,92	30,51	4,92	2,111	0,340
37.	Potamogeton natans					
	Ganze Pflanze	16,35	17,89	6,24	2,925	1,020
38.	Ruppia maritima					
	Ganze Pflanze	19,96	23,15	4,60	4,620	0,918
39.	Zostera marina					
	Ganze Pflanze	18,52	14,07	3,60	2,605	0,666
40.	Possidonia oceanica					
	Ganze Pflanze	20,04	16,72	4,41	3,350	0,883
41.	Lemna minor					
	Ganze Pflanze	11,65	8,30	3,99	0,966	0,464
42.	Convallaria majalis					
	Wurzelstock	3,52	5,66	2,45	0,199	0,086
	Oberirdischer Teil	4,00	6,92	2,63	0,276	0,105

süßem Wasser ganz untergetaucht, oder schwimmend leben, von den Chromatophoren in Form von Bicarbonaten assimiliert und zum Aufbau neuer lebender Substanz benutzt. Die ökologischen Faktoren der Salzwasserflora und Süßwasserflora sind ganz verschieden und kennzeichnen sich nicht nur in der

Tabelle VIII.

Hydrophyten und Hygrophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
43.	Phragmites communis					
	Wurzelstock	13,26	9,89	3,07	1,311	0,407
	Oberirdischer Teil	4,77	3,41	3,82	0,162	0,182
44.	Glyceria aquatica					
	Wurzeln	5,84	6,73	2,27	0,393	0,132
	Oberirdischer Teil	5,02	2,40	2,68	0,120	0,134
45.	Phalaris arundinacea					
	Wurzeln	7,31	5,64	1,72	0,412	0,125
	Oberirdischer Teil	6,86	2,03	1,86	0,139	0,127
46.	Arundo donax					
	Wurzeln	10,30	7,35	2,65	0,757	0,272
	Oberirdischer Teil	5,84	2,28	4,09	0,133	0,238
47.	Juncus bufonius					
	Wurzeln	5,94	4,42	3,51	0,262	0,208
	Oberirdischer Teil	4,83	2,63	3,20	0,127	0,154
48.	Juncus effusus					
	Wurzeln	5,05	5,18	6,39	0,261	0,322
	Oberirdischer Teil	4,92	2,05	7,00	0,100	0,344
49.	Juncus balticus					
	Wurzeln	8,63	9,19	2,47	0,793	0,213
	Oberirdischer Teil	•5,59	3,08	2,68	0,172	0,149
50.	Scirpus silvaticus					
	Wurzelstock	6,67	4,87	2,53	0,324	0,168
	Oberirdischer Teil	6,03	1,63	2,82	0,098	0,170
51.	Scirpus maritimus					
	Wurzelstock	15,42	19,70	1,48	3,037	0,228
	Oberirdischer Teil	6,18	2,25	1,69	0,139	0,104
52.	Carex riparia					
	Wurzelstock	16,02	7,61	2,55	1,219	0,408
	Oberirdischer Teil	7,33	2,84	3,73	0,208	0,273
53.	Carex vesicaria					
	Wurzelstock	9,54	8,03	2,09	0,766	0,199
	Oberirdischer Teil	4,79	3,48	4,64	0,166	0,222

Resorption der biogenen Elemente, sondern auch durch ihre Zusammensetzung.

Der Gehalt an Aluminium- und Eisenion ist in den Tabellen V bis X angeführt.

Die Meerespflanzen und Süßwasserpflanzen zeichnen sich durch einen großen Reinaschegehalt aus.

Delesseria und Plocamium weisen in der Trockensubstanz 20,34 bis 23,44 % Reinasche auf. Halimeda opuntia enthält in der

Tabelle IX.
Hydrophyten und Hygrophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten: Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	In d. Trockensubstanz befanden sich: Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
54.	Carex silvatica					
	Wurzelstock	5,17	5,90	1,58	0,305	0,081
	Oberirdischer Teil	4,26	2,74	3,70	0,116	0,157
55.	Asarum europaeum					
	Wurzelstock	4,51	4,37	2,06	0,197	0,092
	Oberirdischer Teil	3,04	0,98	2,85	0,029	0,086
56.	Rumex acetosella					
	Wurzeln	7,45	6,84	2,18	0,509	0,162
	Oberirdischer Teil	6,20	1,93	2,65	0,119	0,164
57.	Rumex maritimus					
	Wurzeln	14,38	18,81	2,64	2,704	0,379
	Oberirdischer Teil	5,99	1,70	1,72	0,101	0,103
58.	Polygonum hydropiper					
	Wurzeln	4,83	5,07	1,13	0,244	0,054
	Oberirdischer Teil	5,26	0,92	0,90	0,048	0,047
59.	Ranunculus fluitans					
	Wurzeln	15,08	7,33	1,29	1,105	0,194
	Oberirdischer Teil	9,65	1,61	2,96	0,155	0,285
60.	Ranunculus arvensis					
	Wurzeln	10,46	5,74	1,58	0,600	0,165
	Oberirdischer Teil	10,19	2,60	2,02	0,264	0,205
61.	Ranunculus repens					
	Wurzeln	14,66	8,00	3,73	1,172	0,546
	Oberirdischer Teil	6,72	3,51	2,05	0,235	0,137
62.	Caltha palustris					
	Wurzeln	5,79	6,30	2,68	0,364	0,155
	Oberirdischer Teil	6,84	0,31	1,75	0,021	0,119
63.	Fragaria vesca					
	Wurzeln	7,25	5,83	2,66	0,422	0,192
	Oberirdischer Teil	5,04	0,69	2,98	0,034	0,150
64.	Geranium pratense					
	Wurzeln	4,89	3,18	1,93	0,155	0,094
	Oberirdischer Teil	8,32	0,52	2,40	0,043	0,199

Trockensubstanz 19,88 %, die Trockensubstanz von Chara hispida 19,37 % und jene von Laminaria digitata 18,31 % Reinasche.

Was den Aluminiumoxydgehalt betrifft, so befanden sich in der Trockensubstanz der ganzen Pflanze von Delesseria 2,332 %, bei Sargassum bacciferum 1,512 %, bei Halimeda opuntia 1,419 %, bei Bryopsis 1,414 % Aluminiumoxyd; bei Chara hispida sinkt der Aluminiumoxydgehalt in der Trockensubstanz auf 0,867 %[1]).

[1]) Der Aluminiumgehalt bei den Algen variiert ungemein, und infolgedessen haben wir immer die Durchnittszahl aus 3 bis 5 Analysen angenommen.

Tabelle X.

Hydrophyten und Hygrophyten.

	Name der Pflanze	Reinasche in der Trockensubstanz in Prozenten.	In der Reinasche ist enthalten:		In d. Trockensubstanz befanden sich:	
			Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %	Al_2O_3 %	Fe_2O_3 %
65.	Oxalis acetosella					
	Wurzeln	3,73	2,81	4,10	0,104	0,152
	Oberirdischer Teil	6,42	0,64	3,09	0,041	0,198
66.	Daphne Mezereum					
	Wurzeln	4,53	3,06	4,57	0,138	0,207
	Blätter	12,68	2,11	2,92	0,267	0,370
67.	Sium angustifolium					
	Wurzeln	6,04	2,87	2,47	0,173	0,149
	Oberirdischer Teil	4,82	0,50	2,85	0,024	0,137
68.	Cicuta virosa					
	Wurzelstock	9,36	8,86	2,04	0,829	0,190
	Oberirdischer Teil	7,14	0,65	1,79	0,046	0,127
69.	Pulmonaria officinalis					
	Wurzeln	5,93	6,12	1,28	0,362	0,075
	Oberirdischer Teil	5,07	0,76	3,04	0,038	0,154
70.	Symphytum officinale					
	Wurzelstock	6,20	5,54	3,94	0,343	0,244
	Oberirdischer Teil	9,35	1,08	4,21	0,100	0,393
71.	Myosotis palustris					
	Wurzeln	4,62	4,34	1,05	0,200	0,048
	Oberirdischer Teil	6,19	0,57	3,28	0,035	0,203
72.	Galeopsis versicolor					
	Wurzeln	5,94	6,57	1,84	0,390	0,109
	Oberirdischer Teil	7,86	0,72	2,51	0,056	0,197
73.	Salvia glutinosa					
	Wurzeln	6,42	3,28	1,43	0,210	0,091
	Oberirdischer Teil	7,07	0,33	3,69	0,023	0,260
74.	Pedicularis palustris					
	Wurzeln	9,09	2,58	0,92	0,234	0,083
	Oberirdischer Teil	4,63	0,41	2,37	0,018	0,109
75.	Litorella lacustris					
	Wurzeln	11,52	6,15	3,19	0,708	0,367
	Oberirdischer Teil	6,88	0,92	3,46	0,063	0,238
76.	Tussilago Farfara					
	Wurzelstock	13,05	3,88	2,57	0,506	0,335
	Oberirdischer Teil	10,29	1,40	3,02	0,144	0,310
77.	Cirsium palustre					
	Wurzeln	7,28	4,97	1,81	0,361	0,131
	Oberirdischer Teil	6,10	0,66	2,56	0,040	0,156

Der Eisenoxydgehalt tritt namentlich bei Alaria in den Vordergrund, woselbst wir in der Trockensubstanz der ganzen Pflanze 0,483 % gefunden haben.

Von den Monocotyledonen ist namentlich Ruppia maritima zu nennen, wo sich in der Trockensubstanz der ganzen Pflanze 19,96 % Reinasche befanden; in der Trockensubstanz waren 4,62 % Aluminiumoxyd und 0,918 % Eisenoxyd vorhanden.

Bei Possidonia oceanica war in der Trockensubstanz der ganzen Pflanze 20,04 % Reinasche zugegen, und in der Trockensubstanz befanden sich 3,35 % Aluminiumoxyd und 0,883 % Eisenoxyd.

Bei Potamogeton natans waren in der Trockensubstanz 16,35 % Reinasche vorhanden, und in der Trockensubstanz befanden sich 2,925 % Aluminiumoxyd und 1,02 % Eisenoxyd.

Zostera marina wies in der Trockensubstanz 18,52 % Reinasche auf, und in der Trockensubstanz befanden sich 2,605 % Aluminiumoxyd und 0,666 % Eisenoxyd.

Lemna minor enthält in der Trockensubstanz 11,65 % Reinasche, und in der Trockensubstanz waren 0,966 % Aluminiumoxyd und 0,464 % Eisenoxyd zugegen.

In dem humiden Boden, der mehr Wasser enthält als durch die Verdunstung entfernt werden kann, sind einige Flechten, Lichenes, und zwar Cetraria islandica zu nennen, wo sich in der Trockensubstanz 10,05 % Reinasche befinden; in der Trockensubstanz waren 0,585 % Aluminiumoxyd und 0,207 % Eisenoxyd konstatierbar.

Collema rupestre enthält in der Trockensubstanz 11,75 % Reinasche, und in der Trockensubstanz befanden sich 0,860 % Aluminiumoxyd und 0,232 % Eisenoxyd.

Fegatella conica enthielt in der Trockensubstanz 10,18 % Reinasche. In der Trockensubstanz befanden sich 0,473 Aluminiumoxyd und 0,074 Eisenoxyd.

Aneura pinguis wies in der Trockensubstanz 8,16 % Reinasche auf, und in der Trockensubstanz waren 0,431 % Aluminiumoxyd und 0,094 % Eisenoxyd zugegen.

Marchantia polymorpha enthielt in der Trockensubstanz 12,52 % Reinasche, und in der Trockensubstanz befanden sich 0,396 % Aluminiumoxyd und 0,060 Eisenoxyd.

Plagiochila asplenoides enthielt in der Trockensubstanz 9,36 % Reinasche, und in der Trockensubstanz waren 0,381 % Aluminiumoxyd und 0,212 % Eisenoxyd zugegen.

Von den Hypnaceen ist namentlich Hypnum cuspidatum zu erwähnen, das in der Trockensubstanz 7,86 % Reinasche enthielt, und in der Trockensubstanz befanden sich 0,448 % Aluminiumoxyd und 0,252 % Eisenoxyd.

Climacium dendroides enthält in der Trockensubstanz 10,82 % Reinasche, und in der Trockensubstanz befanden sich 0,397 % Aluminiumoxyd und 0,21 % Eisenoxyd.

Drepanocladus fluitans wies in der Trockensubstanz 8,05 % Reinasche auf, und in der Trockensubstanz waren 0,354 % Aluminiumoxyd und 0,165 % Eisenoxyd zugegen.

Von den Sphagnaceen ist Sphagnum cymbifolium, Sphagnum acutifolium, Sphagnum Lindbergii anzuführen, die 6,14 bis 7,39 % Reinasche in der Trockensubstanz enthalten und in der Trockensubstanz 0,3 bis 0,5 % Aluminiumoxyd und 0,4 bis 0,6 % Eisenoxyd aufweisen.

Bei den Filices finden wir in dem Wurzelstock (Rhizoma) immer mehr Reinasche und Aluminiumoxyd als im oberirdischen Teil.

Zum Beispiel bei Aspidium Filix mas waren in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 8,38 % Reinasche, 0,796 % Aluminiumoxyd und 0,37 % Eisenoxyd vorhanden. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles befanden sich bloß 3,24 % Reinasche, 0,031 Aluminiumoxyd und 0,092 % Eixenoxyd.

Aspidium Thelypteris wies in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 9,57 % Reinasche, 0,653 % Aluminiumoxyd und 0,475 % Eisenoxyd auf. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles waren 3,36 % Reinasche, 0,019 % Aluminumoxyd und 0,103 % Eisenoxyd zugegen.

Polypodium vulgare wies in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 7,02 % Reinasche, 0,48 % Aluminiumoxyd und 0,159 % Eisenoxyd auf. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles befanden sich 4,29 % Reinasche, 0,065 % Aluminiumoxyd und 0,121 % Eisenoxyd.

Ophioglossum vulgatum. Der Wurzelstock enthielt in der Trokkensubstanz 7,65 % Reinasche, und in der Trockensubstanz befanden sich 0,449 % Aluminiumoxyd, sowie 0,234 % Eisenoxyd. Der oberirdische Teil wies in der Trockensubstanz 5,81 % Reinasche, 0,058 % Aluminiumoxyd und 0,201 % Eisenoxyd auf.

Osmunda regalis und Osmunda spectabilis weisen in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 5,69 bis 6,05 % Reinasche und 0,374 bis 0,391 % Aluminiumoxyd auf. Die Trockensubstanz des oberirdischen Teiles enthielt 4,17 bis 6,02 % Reinasche, und in der Trockensubstanz befanden sich 0,11 bis 0,266 % Aluminiumoxyd.

Blechnum Spicant wies in der Trockensubstanz der Wurzeln 5,48 % Reinasche, 0,346 % Aluminiumoxyd und 0,089 % Eisenoxyd auf. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles befanden sich 5,99 % Reinasche, 0,104 % Aluminiumoxyd und 0,058 % Eisenoxyd.

Cystopteris fragilis enthält in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 6,72 % Reinasche, 0,302 % Aluminiumoxyd und 0,059 % Eisenoxyd. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles befanden sich 5,16 % Reinasche, 0,062 % Aluminiumoxyd und 0,12 % Eisenoxyd.

Nun treten wir zum Equisetum. Beim Equisetum war im Wurzel-

stock mit den Nebenwurzeln immer eine größere Menge Reinasche enthalten, als im oberirdischen Teile. Bei Equisetum arvense und Equisetum silvaticum befanden sich im Wurzelstock in der Trockensubstanz 21,29 bis 24,34% Reinasche. In der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles waren 16,86 bis 18,05% Reinasche zugegen.

Der Wurzelstock mit den Nebenwurzeln enthielt in der Trockensubstanz 1,737 bis 1,775% Aluminiumoxyd und 0,571 bis 0,606% Eisenoxyd; der oberirdische Teil wies 0,345 bis 0,478% Aluminiumoxyd und 0,265 bis 0,291% Eisenoxyd auf.

Große Mengen von Aluminium sind bei nachstehenden Aluminiumpflanzen in dem Wurzelstock, oder den Wurzeln vorhanden:

Bei Lycopodium, und zwar Lycopodium clavatum und Lycopodium inundatum sind in der Trockensubstanz des kriechenden Stengels mit den Nebenwurzeln 5,46 bis 6,66% Aluminiumoxyd, in dem oberirdischen Teil 1,844 bis 2,111% Aluminiumoxyd vorhanden.

Von anderen in den Tabellen angeführten Pflanzen ist namentlich Scirpus maritimus zu nennen. Der Wurzelstock weist in der Trockensubstanz 3,037%, die Trockensubstanz des oberirdischen Teiles 0,139% Aluminiumoxyd auf.

Rumex maritimus. In der Trockensubstanz der Wurzeln sind 2,704%, in jener des oberirdischen Teiles 0,101% Aluminiumoxyd zugegen.

Phragmites communis. Die Wurzeln, oder der Wurzelstock sind reich an Aluminiumoxyd, sie enthalten in der Trockensubstanz 1,311%. Der oberirdische Teil weist in der Trockensubstanz bloß 0,162% Aluminiumoxyd auf.

Carex riparia. In der Trockensubstanz der Wurzeln befinden sich 1,219%, in jener des oberirdischen Teiles 0,208% Aluminiumoxyd.

Ranunculus repens. Die Trockensubstanz der Wurzeln enthält 1,172%, jene des oberirdischen Teiles 0,235% Aluminiumoxyd.

Ranunculus fluitans. In der Trockensubstanz der Wurzeln befinden sich 1,105% Aluminiumoxyd, in jener des oberirdischen Teiles 0,155% Aluminiumoxyd.

Cicuta virosa. In den Wurzeln befanden sich in der Trockensubstanz 0,829%, in der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles 0,046% Aluminiumoxyd.

Juncus balticus. Die Wurzeln enthalten in der Trockensubstanz 0,793%, der oberirdische Teil 0,172% Aluminiumoxyd.

Arundo donax. Die Trockensubstanz der Wurzeln weist 0,757% Aluminiumoxyd, jene des oberirdischen Teiles 0,133% Aluminiumoxyd auf.

Bei allen anderen in den Tabellen angeführten Pflanzen befinden sich in der Trockensubstanz des Wurzelstockes, oder der Wurzeln 0,104

bis 0,766 % Aluminiumoxyd, in jener des oberirdischen Teiles 0,018 bis 0,276 % Aluminiumoxyd.

Die von uns gewonnenen Daten der von 72 Hydrophyten und Hygrophilen ausgeführten Analysen dokumentieren ganz deutlich, daß das Aluminiumion in dem Pflanzenreiche, namentlich bei den Hydrophyten und Hygrophilen stark verbreitet ist.

Man sieht hier allgemein, daß sich das Aluminiumion meist in den Wurzeln, oder Wurzelstock, oder in den speichernden Grundachsen, oder wandernden Grundachsen (Rhizome), Stammknollen, Wurzelknollen, oder Zwiebel (bei den Liliaceen) der höher organisierten Pflanzen konzentriert und in diesen immer in größeren Mengen vorhanden ist, als im oberirdischen Teil.

Ich kann hier nicht unerwähnt lassen, daß das Nährmedium, in dem sich die Hydrophyten entwickelten, einen großen Einfluß auf den Aluminiumgehalt ausübt. Infolgedessen haben wir auch bei den Hydrophyten bedeutende Differenzen in dem Aluminiumgehalt gefunden. Der minimalste Aluminiumgehalt bei den Hydrophyten und Hygrophilen war meistens noch größer als der höchste Aluminiumgehalt bei den Mesophyten und Xerophyten. Die von uns angeführten Daten repräsentieren den Durchschnitt aus 3 bis 5 Analysen. Die Forscher, die sich mit dem Studium der Verbreitung des Aluminiumions im Pflanzenreiche beschäftigten, haben meistens nur den oberirdischen Teil der höher organisierten Pflanzen untersucht, und demgemäß herrschen über die Verbreitung des Aluminiumions im Pflanzenreiche ganz falsche Anschauungen, wie dies auch bei dem bekannten Buche: Wolfs Aschenanalysen, der Fall ist.

Speziell alle Wasserpflanzen, Meerespflanzen und Süßwasserpflanzen, sowie Pflanzen auf schlammigem und sumpfigem Ufer, auf Moor und nassen Wiesen enthalten in ihren Organismen immer bedeutende Quantitäten von Aluminiumion. Es wurde auch behauptet, daß gewisse Symplocos-Arten viel Aluminium enthalten und als echte Aluminiumpflanzen zu bezeichnen sind.

Bei unseren Forschungen bezüglich der Beschaffenheit der Flora wurde gefunden, daß alle Pflanzen, die reich an Mangan-

ion sind, in ihren Wurzeln, oder Rhizomen große Quantitäten von Aluminiumion enthalten. Als Beispiel führe ich hier die Pflanze *Digitalis purpurea* an, die in der böhm.-sächs. Schweiz auf dem Boden des verwitterten Sandsteines der Kreideformation wächst und in der Trockensubstanz des oberirdischen Teiles Stengel, Blätter und Blüten 0,84 bis 1,2 % Mn_2O_3 enthält. Die Trockensubstanz der Wurzeln weist 0,54 % Al_2O_3 und jene des oberirdischen Teiles bloß 0,034 % Al_2O_3 auf.

Interessant ist gewiß, daß die Wurzeln von Digitalis purpurea nur 0,105 % Mn_2O_3 enthalten.

Ich lasse hier noch einige andere Beispiele folgen.

Die Blätter von *Cyclamen europaeum* enthielten in der Trockensubstanz 0,67 % *Manganoxyd* und 0,108 % *Aluminiumoxyd*; die Trockensubstanz der Blätter von *Rhododendron ferrugineum* wies 0,39 % *Manganoxyd* und 0,098 % *Aluminiumoxyd* auf; die Trockensubstanz der Blätter von *Anemone nemorosa* enthielt 0,36 % *Manganoxyd* und 0,216 % *Aluminiumoxyd*.

Der unterirdische Teil von *Cyclamen europaeum* enthielt in der Trockensubstanz 0,013 % *Manganoxyd* und 0,534 % *Aluminiumoxyd*, jener von *Rhododendron ferrugineum* 0,029 % *Manganoxyd* und 0,383 % *Aluminiumoxyd* und jener von *Anemone nemorosa* 0,019 % *Manganoxyd* und 0,186 % *Aluminiumoxyd*.

Interessant zu verfolgen ist die Verbreitung des Aluminiumions in dem ganzen Organismus der Pflanze.

Galeopsis versicolor enthielt in der Trockensubstanz der Wurzeln	0,352 %	Aluminiumoxyd	
in jener der Blätter	0,046 %	"	
Die Trockensubstanz der Blüten enthält . . .	0,058 %	"	
Die Trockensubstanz der Samen enthält . . .	0,069 %	"	
Die Blüten von *Pulmonaria officinalis* weisen in der Trockensubstanz	0,098 %	"	auf.
Die Trockensubstanz der Samen enthielt . . .	0,083 %	"	
Die Trockensubstanz der Blüten von *Daphne Mezereum* wies	0,147 %	"	
und die Trockensubstanz der Samen	0,213 %	"	auf.
Die Samen von *Caltha palustris* enthalten in der Trockensubstanz	0,103 %	"	
In der Trockensubstanz der Samen von *Symphytum officinale* befanden sich . . .	0,086 %	"	

Die Blüten von Convallaria majalis enthalten in der Trockensubstanz . . . . . . 0,073% Aluminiumoxyd
Die Blüten von Ranunculus arvensis besitzen in der Trockensubstanz . . . . . . 0,086% "
Die Samen von Ranunculus arvensis enthalten in der Trockensubstanz . . . . . . 0,205% "

Aus diesen Zahlen ersieht man ganz genau, daß die Blütenorgane, sowie der Samen immer Aluminiumion in deutlich nachweisbaren Mengen enthalten.

Bei den Xerophyten waren in der Trockensubstanz der Blüten bloß Spuren, oder überhaupt kein Aluminiumion zu konstatieren.

Aus der ganzen Ökonomik des Pflanzenlebens der Hydrophyten und Hygrophilen ersieht man, daß bei der Mechanik des Mineralstoffwechsels die Aufnahme des Aluminiumions durch die Zelle aus dem Wasser oder Boden ein spezielles Bedürfnis ist. Es herrscht hier bei der Zellenfunktion der Hydrophyten und Hygrophilen ein besonderes quantitatives Wahlvermögen für das Aluminiumion, das sich in den Wurzeln der höher organisierten Pflanzen, oder in den Rhizomen, Wurzelknollen und Zwiebeln konzentriert. Der oberirdische Teil bei höher organisierten Pflanzen enthält immer weniger Aluminiumion als der unterirdische Teil. Eine besonders physiologische Eigenschaft der Hydrophyten und Hygrophilen besteht darin, indem von den Reservestoffen der Samen auch das Aluminium aufgespeichert wird, das bei der Entwicklung der Keimlinge eine wichtige Rolle spielt, nachdem das Wurzelsystem im jugendlichen Zustande in vielen Fällen nicht imstande ist, die nötige Menge Aluminiumion aus dem Boden zu resorbieren.

Die Zellen nehmen von den im umgebenden Medium gelösten Ionen verhältnismäßig große Mengen von Aluminiumion auf. Es herrscht hier ein großer Unterschied in der Mechanik der Aufnahme der Aschenbestandteile bei den Xerophyten und Hydrophyten, sowie Hygrophilen. Bei vielen xerophilen Pflanzen ist es uns nicht gelungen, mittels der Wasserkulturmethode die Keimlinge zur vollen Entwicklung zu bringen, wie dies bei den Hydrophyten der Fall war.

Wir haben uns bei unseren Untersuchungen überzeugt, daß das Wachstum der Hydrophyten in der Nährlösung nur bei Gegenwart von Aluminiumion vor sich gegangen ist. Wenn sich das Aluminiumion, namentlich bei höher organisierten Pflanzen in den Wurzeln oder Rhizomen, Wurzelknollen und Zwiebeln bei den Hydrophyten und Hygrophilen konzentriert, so ist ihm bei den gesamten Stoffaustauschvorgängen gewiß eine bedeutungsvolle physiologische Funktion zugewiesen. Was für eine Funktion das aber ist, wird in den folgenden Abhandlungen von mir erläutert werden.

Mesophyten.

Pflanzen, die Boden und Luft mit mittlerer Feuchtigkeit vorziehen, ferner einen Boden, der reich an Nährstoffen ist, beanspruchen und in gemäßigten Gegenden meistens an Kulturland gebunden sind, zählen zu den Mesophyten. Wir haben schon durch längere Zeit den Mesophytenverein beobachtet und unsere Aufmerksamkeit ausgewählten Pflanzen, deren Entwicklung in einem Boden in trockenen, oder nassen Gebieten vor sich ging, zugewendet.

Ich lasse hier die Beobachtungsresultate folgen, die wir bei einigen Gramineen, Papiolionaceen und Caryophyllaceen erzielten.

Die Pflanzen haben sich in einem gleichen Boden und unter denselben bioklimatischen Verhältnissen entwickelt. Poa pratensis (Rispengras) wurde auf trockenem Standorte, sowie auf feuchten, nassen Wiesen beobachtet, was auch bei Dactylis glomerata (Knaulgras) der Fall war.

Von den Leguminosen wurde Trifolium repens (Weißklee) und Medicago lupulina (Hopfenklee) beobachtet.

Von den Caryophyllaceen wurde Lychnis flos cuculi und Agrostemma githago zu unseren Versuchen herangezogen.

Der Aluminiumgehalt von Poa pratensis gestaltete sich in der Trockensubstanz auf trockenem Standorte wie folgt:

Wurzeln . . . . Spuren Al_2O_3
Oberirdischer Teil . . . . 0,019 g „

Auf nassem Standorte befanden sich in der Trockensubstanz der Wurzeln . . . . 0,157 g „
in jener des oberirdischen Teiles . . . . 0,014 g „

Dactylis glomerata.

Auf trockenem Standorte befanden sich in der
Trockensubstanz der Wurzeln . . . . 0,009 g Al_2C_3
in jener des oberirdischen Teiles . . . . 0,011 g „

Auf nassem Standorte waren in der Trockensubstanz
enthalten: Wurzeln . . . . 0,274 g „
Oberirdischer Teil . . . . 0,016 g „

Trifolium repens.

Auf trockenem Standorte befanden sich in der
Trockensubstanz: Wurzeln . . . . 0,016 g „
Oberirdischer Teil . . . . 0,021 g „

Auf nassem Standorte waren in der Trockensubstanz
vorhanden: Wurzeln . . . . 0,087 g „
Oberirdischer Teil . . . . 0,026 g „

Medicago lupulina.

Auf trockenem Standorte befanden sich in der
Trockensubstanz der Wurzeln und des oberirdischen
Teiles nur . . . . Spuren von „

Auf nassem Standorte waren in der Trockensubstanz
nachweisbar: Wurzeln . . . . 0,404 g „
Oberirdischer Teil . . . . 0,029 g „

Lychnis flos cuculi.

Vom trockenen Standorte befanden sich in der
Trockensubstanz: Wurzeln . . . . Spuren von „
Oberirdischer Teil . . . . 0,014 g „

Vom nassen Standorte befanden sich in der Trocken-
substanz: Wurzeln . . . . 0,158 g „
Oberirdischer Teil . . . . 0,023 g „

Agrostemma githago.

Vom trockenen Standorte befanden sich in der
Trockensubstanz der Wurzeln . . . . Spuren von „
des oberirdischen Teiles . . . . „ „ „

Vom nassen Standorte befanden sich in der Trocken-
substanz der Wurzeln . . . . 0,075 g „
des oberirdischen Teiles . . . . Spuren von „

Alle diese Daten zeigen ganz deutlich, daß die Pflanzen die sich auf trockenem Standorte entwickelt haben, ungemein arm an Aluminiumion waren, und diese kleinen Quantitäten sind hauptsächlichst im oberirdischen Teil vorhanden. Dieselben Pflanzen, die auf nassem sumpfigen

21*

Boden zur Entwicklung gelangten, haben speziell in den Wurzeln merkliche Quantitäten von Aluminiumion akkumuliert.

Die Aufnahme des Aluminiumions auf nassem Standorte ist für die Pflanze ein physiologisches Bedürfnis, wie dies nachstehende Daten der Analyse des Wurzelsystems dokumentieren. Auf nassem Standorte ist bei Poa pratensis der Aluminiumgehalt um 0,138 g, bei Dactylis glomerata um 0,256 g, bei Trifolium repens um 0,071 g, bei Medicago lupulina um 0,404 g, bei Lychnis flos cuculi um 0,158 g und bei Agrostemma githago um 0,075 g gestiegen.

Zusammenfassung.

I. Aus unseren Beobachtungen geht hervor, daß sich alle Pflanzenorgane der Xerophyten durch einen kleinen Aluminiumiongehalt kennzeichnen. Oft sind daselbst sogar bloß Spuren von Aluminiumion konstatierbar. Die Blüte, sowie der Samen der Phanerogamen wiesen höchstens Spuren von Aluminiumoxyd auf. Es ist dies eine individuelle Eigenschaft der Xerophyten, daß das Aluminiumion nur in ganz geringen Quantitäten aus dem Boden resorbiert wird.

II. Die Hydrophyten und Hygrophilen hingegen zeichnen sich durch einen großen Aluminiumgehalt aus. Es sind das namentlich die Algen, und zwar die Chlorophyceen, von denen Bryopsis in der Trockensubstanz 1,414 % und Halimeda opuntia 1,419 % Aluminiumoxyd aufweisen. Von den Phaeophyceen enthält Sargassum bacciferum in der Trockensubstanz 1,512 % Aluminiumoxyd. Von den Rhodophyceen befindet sich in der Trockensubstanz bei Delesseria 2,332 % Aluminiumoxyd.

Von den Charales enthält Chara hispida in der Trockensubstanz 0,867 % Aluminiumoxyd. Bei den höher organisierten Pflanzen, und zwar bei den Filices, finden wir in dem Wurzelstock immer mehr Aluminiumoxyd als im oberirdischen Teil. Beispielsweise bei Aspidium Filix mas beläuft sich der Aluminiumoxydgehalt in der Trockensubstanz des Wurzel-

stockes auf 0,796 %, bei jener des oberirdischen Teiles auf 0,031 %. Die Equisetales enthalten in der Trockensubstanz des Wurzelstockes 1,737 bis 1,775 %, der oberirdische Teil 0,345 bis 0,478 % Aluminiumoxyd. Bei den Lycopodiales befinden sich in der Trockensubstanz des keimenden Stengels mit den Nebenwurzeln 5,46 bis 6,66 % Aluminiumoxyd, in jener des oberirdischen Teiles 1,844 bis 2,111 % Aluminiumoxyd. Reich an Aluminium sind auch die Cyperaceen. Zum Beispiel Scirpus maritimus enthält in der Trockensubstanz der Wurzeln 3,037 %, in jener des oberirdischen Teiles 0,139 % Aluminiumoxyd. Von den Polygonaceen ist namentlich Rumex maritimus zu nennen, woselbst in der Trockensubstanz der Wurzeln 2,704 %, jener des oberirdischen Teiles 0,101 % Aluminiumoxyd vorhanden sind.

Eine große Anzahl von Hydrophyten und Hygrophilen enthält in der Trockensubstanz des Wurzelstockes, oder der Wurzeln 0,104 bis 0,766 % Aluminiumoxyd, in jener des oberirdischen Teiles 0,018 bis 0,276 % Aluminiumoxyd.

Die Blüte, sowie der Samen der von uns untersuchten Phanerogamen enthalten stets Aluminium, ja sogar in nennenswerten Mengen.

Aus der ganzen Ökonomik des Pflanzenlebens der Hydrophyten und Hygrophilen ersieht man, daß bei der Mechanik des Mineralstoffwechsels die Aufnahme des Aluminiumions durch die Zelle aus dem Wasser oder Boden ein spezielles Bedürfnis ist. Es herrscht hier bei der Zellenfunktion der Hydrophyten oder Hygrophilen ein besonderes quantitatives Wahlvermögen für das Aluminiumion, das sich in den Wurzeln, Rhizomen, Wurzelknollen und Zwiebeln der höher organisierten Pflanzen konzentriert. Der oberirdische Teil bei höher organisierten Pflanzen enthält immer weniger Aluminiumion als der unterirdische. Eine besonders physiologische Eigenschaft der Hydrophyten und Hygrophilen besteht darin, indem von

den Reservestoffen der Samen auch das Aluminium aufgespeichert wird.

III. Bei den Mesophyten wurde konstatiert, daß bei allen Pflanzen, die sich auf einem trockenen Standorte entwickelten, sowohl die Wurzeln, als auch der oberirdische Teil ungemein arm an Aluminiumion waren. Dieselben Pflanzen aber, die auf einem nassen, sumpfigen Boden zur Entwicklung gelangten, haben speziell in den Wurzeln merkliche Quantitäten von Aluminiumion akkumuliert.

Bestimmungen der Purinbasen in Nahrungsmitteln.

Von

Th. von Fellenberg.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Schweiz. Gesundheitsamtes in Bern.)

(Eingegangen am 13. März 1918.)

Die Purinbasen sind physiologisch von großem Interesse, da sie sich als Bausteine der Nucleoproteide am Aufbau dieser für den Zellkern charakteristischen Körper beteiligen. Die Nucleoproteide setzen sich zusammen aus Eiweiß und den Nucleinen, letztere aus Eiweiß und den Nucleinsäuren, die Nucleinsäuren aus Phosphorsäure, Pentose, Purin- und Pyramidinbasen.

In den Nucleinen werden folgende Purinbasen angetroffen:

Xanthin, 2,6-Dioxypurin, $C_5H_4N_4O_2$,
Hypoxanthin oder Sarkin, 6-Oxypurin, $C_5H_4N_4O$,
Guanin, 2-Amino-6-Oxypurin, $C_5H_5N_5O$,
Adenin, 6-Aminopurin, $C_5H_5N_5$.

Daneben findet sich Hypoxanthin auch in den Muskeln. Im Harn sind außer den genannten Purinbasen in sehr kleiner Menge einige weitere gefunden worden. Vor allem enthält aber der Harn Harnsäure, 2, 6, 8-Trioxypurin. In einigen Genußmitteln kommen ferner Theobromin, 1,7-Dimethylxanthin und Kaffein, 1, 3, 7-Trimethylxanthin vor.

Die Konstitution des Purinkerns, der den Purinbasen zugrunde liegt, wird durch folgendes Formelbild wiedergegeben:

$$\begin{array}{ccccc} N_1 & - & C_6 & & \\ | & & | & & \\ C_2 & & C_5 & - & N_7 \\ | & & | & & \quad\searrow C_8 \\ N_3 & - & C_4 & - & N_9 \nearrow \end{array}$$

Das eigentliche Purin $C_5H_4N_4$ kommt in der Natur nicht vor. Es ist jedoch von Emil Fischer synthetisch erhalten worden.

Die Purinbasen, die teils mit der Nahrung aufgenommen werden, teils aus den Verdauungssäften des Organismus selbst stammen und auch beim Zerfall der Nucleine des Körpers abgespalten werden, gelangen zum kleinen Teil als solche in die Fäces und den Harn, zum größten Teil werden sie zu Harnsäure oxydiert und in dieser Form normalerweise im Harn ausgeschieden.

Unter gewissen pathologischen Verhältnissen erleidet dieser Vorgang Störungen[1]). Bei Gicht erfolgt eine verzögerte, mangelhafte Ausscheidung der Harnsäure. Ein Teil davon wird in den Geweben retiniert und als Natriumurat unter Bildung der sog. Tophi in den Gelenken abgelagert. Bei der Uratdiathese ist der Purinstoffwechsel normal: jedoch ist hier das Lösungsvermögen des Harns für die Harnsäure herabgesetzt, so daß sich die Harnsäure zum Teil in den Harnwegen in Form von Uratsteinen ablagert.

Die Therapie beider Krankheiten erfordert in erster Linie eine möglichste Herabsetzung der Harnsäurebildung. Die exogene, den Purinbasen der Nahrung entstammende Harnsäure kann durch purinfreie bzw. purinarme Ernährung vermindert werden. Derjenige Teil der endogenen, aus den Purinbasen des Körpers selbst gebildeten Harnsäure, der den Verdauungssäften entstammt, läßt sich herabsetzen durch Verminderung des purinfreien Eiweißes der Nahrung, denn bei der Eiweißverdauung erhöht sich der Purinbasengehalt der Verdauungssäfte gegenüber der Verdauung von Fett und Kohlenhydraten.

Zur Verminderung der exogenen Harnsäure ist es von Wichtigkeit, den Puringehalt möglichst aller Nahrungsmittel zu kennen. Obgleich sich schon viel Material in dieser Richtung in der Literatur findet, war es doch wünschenswert, noch weiteres beizubringen. Es wurde deshalb von medizinischer Seite die Anregung zu der vorliegenden Arbeit gegeben.

Ich verwendete zu meinen Bestimmungen die Kupfersulfat-

---

[1]) Vgl. F. Umber, Ernährung und Stoffwechselkrankheiten, Urban und Schwarzenberg, 1914.

Bisulfitmethode von Krüger und Schittenhelm[1]), die auf der Fällbarkeit der Purinbasen durch Kuprosalze beruht. Da in einzelnen Fällen kleine Abweichungen bzw. Erweiterungen der Vorschrift geboten waren, sei im folgenden mein Arbeitsgang des näheren beschrieben.

Mengen von einigen 100 g bis 1 kg, bei sehr purinreichen Ausgangsmaterialen auch kleinere Mengen, wurden in gewogenen Stehkolben, wenn die Materialien stark wasserhaltig waren, mit dem 1- bis 2 fachen, bei wasserarmen Materialien mit dem 5- bis 10 fachen Gewicht Wasser und auf je 100 g der Mischung mit 1 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und ungefähr 4 Stunden lang über freiem Feuer schwach gekocht. In der ersten Zeit des Erhitzens tritt oft Tendenz zum Schäumen auf, welches durch Einblasen von Luft verhindert wird. Meist schon nach einigen Minuten siedet der Brei ruhig. Bei stärkehaltigen Nahrungsmitteln ist es oft nötig, vorerst zur Lösung der Stärke 1 Stunde lang auf dem Wasserbade zu erhitzen, um ein Anbrennen des Kolbeninhalts zu verhindern.

Nach dem Zerkochen mit Schwefelsäure läßt man etwas abkühlen, macht mit starker Natronlauge deutlich alkalisch, fügt für je 100 g des Breies 1 ccm Eisessig sowie etwas Oxalsäure hinzu, um das Calcium auszufällen, kocht auf, läßt erkalten, wägt den Kolben mit der Flüssigkeit und filtriert durch ein Faltenfilter. Um möglichst viel Filtrat zu erhalten, ist es oft zweckmäßig, das Faltenfilter samt dem Niederschlag durch ein Tuch zu pressen und die Flüssigkeit nochmals durch Papier zu filtrieren. Das Filtrat wird gewogen und mit Natronlauge neutralisiert. Nun gibt man auf je 100 g Flüssigkeit 10 ccm wässerige Bisulfitlösung zu, erhitzt zum Kochen, fügt (sehr vorsichtig, um ein Überschäumen zu verhüten) dieselbe Menge 10 $^0/_0$ ige Kupfersulfatlösung, wie Bisulfit hinzu, erhitzt die Flüssigkeit weiter und hält sie 3 Minuten im Sieden, wobei man einem allfälligen Schäumen durch Einblasen von Luft begegnet. Nun hüllt man den Kolben in ein Tuch ein, um ihn warm zu halten, läßt 10 bis 15 Minuten stehen, damit sich der braune Kupferniederschlag absetzt, gießt die Flüssigkeit

---

[1]) Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 3, 893; Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 14, 1905.

durch ein Faltenfilter und wäscht den Niederschlag mit heißem Wasser gut aus. Es kommt gelegentlich vor, daß der Niederschlag so fein ausfällt, daß er durch das Filter geht oder daß er in brauner, kolloidaler Lösung gehalten wird. In diesem Falle spült man ihn in den Kolben zurück, erhitzt nochmals mit Bisulfit und etwas mehr Kupfersulfat, z. B. mit 10 ccm Bisulfitlösung und 20 ccm Kupfersulfatlösung 3 Minuten lang.

Der ausgewaschene Kupferniederschlag wird mit heißem Wasser in einen Kolben gespült, mit überschüssiger Natriumsulfidlösung (20 bis 30 ccm genügen meist) versetzt und einige Minuten gekocht[1]). Man prüft mit Bleipapier, ob wirklich überschüssiges Sulfid da ist, säuert heiß mit Essigsäure an und kocht noch einige Minuten, wobei sich das Kupfersulfid gut abscheidet, filtriert durch eine Nutsche und wäscht den Niederschlag mit heißem Wasser aus. Das Filtrat wird in einer Porzellanschale mit 3 bis 5 ccm 20%iger Salzsäure auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, mit 2 bis 3 ccm Salzsäure befeuchtet, mit etwas Wasser versetzt, noch kurze Zeit erwärmt, nach dem Erkalten durch ein kleines Filterchen filtriert, nachgewaschen, das Filtrat auf etwa 80 ccm verdünnt, mit verdünnter Natronlauge eben alkalisch gemacht, mit 10 ccm Bisulfitlösung versetzt und bei Siedehitze mit 10 ccm Kupfersulfatlösung gefällt und wieder 3 Minuten im Sieden erhalten. Man filtriert den flockigen Niederschlag sogleich ab, wäscht ihn mit heißem Wasser aus, verbrennt ihn samt dem Filter nach Kjeldahl. Durch einen blinden Versuch bestimmt man den Stickstoffgehalt des Filters und zieht ihn von dem gefundenen Wert ab.

In manchen Fällen wurde etwas komplizierter verfahren. Oft preßte man den nach Neutralisation der Schwefelsäure erhaltenen Brei durch ein Tuch, wog das Filtrat und verarbeitete es wie angegeben weiter. Es scheint mir, daß diese Änderung nirgends eigentlich notwendig ist. Hingegen kam es gelegentlich vor, daß beim Neutralisieren der essigsauren Lösung ein flockiger Niederschlag ausfiel, der die Filtration des Kupferniederschlages außerordentlich erschwerte. In andern Fällen

[1]) Die Natriumsulfidlösung bereitet man sich aus einer 1%igen Natronlauge, indem man die eine Hälfte davon mit Schwefelwasserstoff sättigt und darauf mit der andern Hälfte mischt.

erzeugte erst die Bisulfitlösung, oft erst beim Erhitzen, einen ähnlichen flockigen Niederschlag. Ab und zu löste sich der mit Natronlauge entstandene Niederschlag bei Zusatz von Bisulfit wieder und störte weiter nicht. Von solchen Niederschlägen wurde in der Regel abfiltriert und die dadurch entstandene Gewichtsverminderung in Rechnung gezogen.

Bei Gegenwart von viel Kohlenhydraten kann eine weitere Störung eintreten, wenn nach der Neutralisation der warmen, schwefelsauren Lösung mit Natronlauge die Lösung einige Zeit bei alkalischer Reaktion belassen wird. Es entstehen dann aus den Kohlenhydraten Säuren, die später die Ausfällung und Filtration des Kupferniederschlages außerordentlich stören.

Bei der Berechnung des Puringehaltes müssen wir uns klar machen, als was wir unsere Werte angeben wollen. Folgende Zusammenstellung gibt die Molekular- und die Äquivalentgewichte der Purinbasen wieder, wobei wir auch die Zahlen für das wahre Purin beifügen:

	Formel	Molekulargewicht	Äquivalentgewicht
Purin	$C_5H_4N_4$	120	30
Xanthin . . .	$C_5H_4N_4O_2$	152	38
Hypoxanthin .	$C_5H_4N_4O$	136	34
Guanin . . .	$C_5H_5N_5O$	151	30,2
Adenin . . .	$C_5H_5N_5$	135	27

Das mittlere Äquivalentgewicht der 4 in Betracht fallenden Purinbasen ist 32,3. Da aber Guanin und Adenin gegenüber Xanthin und Hypoxanthin quantitativ vorwiegen, ist ein niedrigeres Äquivalentgewicht richtiger. Wir wählen deshalb dasjenige des wahren Purins, 30. Oft findet man die Purinkörper in Purinbasen-Stickstoff ausgedrückt. Unsere Werte lassen sich durch Multiplikation mit $^{14}/_{30}$ in Purinbasen-Stickstoff umrechnen.

Zur Berechnung des Puringehaltes können folgende Formeln dienen.

Der Puringehalt P der frischen Substanz, in Prozent ausgedrückt, ist

$$P = \frac{0{,}3 \cdot c\,(v - u)}{g \cdot a}.$$

Der Puringehalt der Trockensubstanz P_t ist

$$P_t = \frac{100 \cdot P}{t},$$

wobei

g = Gewicht des Ausgangsmaterials,

v = Flüssigkeitsmenge nach dem Zusatz der Essigsäure und Oxalsäure,

u = Unlöslicher Anteil des Ausgangsmaterials, wird geschätzt,

a = zur Kupferfällung verwendetes Filtrat von v,

c = zur Titration verbrauchte ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 bei der Stickstoffbestimmung,

t = Prozentgehalt des Ausgangsmaterials an Trockensubstanz.

Hat man vor der Kupferfällung, sei es nach Neutralisieren der essigsauren Lösung oder nach Zusatz der Bisulfitlösung, noch eine Filtration vornehmen müssen, so berechnet man den dadurch eingetretenen Verlust an a besonders.

Soweit Doppelbestimmungen ausgeführt wurden, ergaben sie sehr gut übereinstimmende Resultate, wie die Werte der Tabelle I zeigen.

Tabelle I.

Auf frische Substanz berechnet wurden folgende Prozentgehalte an Purin gefunden:

			Differenz
Kartoffeln	0,0113	0,0110	0,0003
„	0,0129	0,0118	0,0011
Spinat	0,0352	0,0364	0,0012
Neuseeländischer Spinat	0,0237	0,0241	0,0004
Lattich	0,0209	0,0203	0,0006
Zwetschen	0,0028	0,0033	0,0005
Pflaumen	0,0033	0,0033	0
Krautstiele (Rippenmangold)	0,0049	0,0053	0,0004
Rhabarber	0,0091	0,0091	0
Rüben, kleine gelbe	0,0165	0,0164	0,0001
Kürbis	0,0056	0,0055	0,0001
Gurke	0,0065	0,0065	0
Tomaten	0,0091	0,0091	0

Wo etwas größere Differenzen auftreten, wie bei Kartoffeln (2. Muster) und Spinat, sind Verluste durch Überkochen vorgekommen. Die gute Übereinstimmung enthob uns der Mühe, in allen Fällen Doppelbestimmungen vorzunehmen. Es genügte,

nur diejenigen Bestimmungen zu wiederholen, bei denen ich mir eines Fehlers bewußt war.

Nach Umber soll gekochtes Rindfleisch für Gichtkranke weniger schädlich sein als gebratenes, da die Purinbasen beim Kochen in die Brühe gehen. Fleischbrühe ist aus demselben Grunde für diese Patienten zu meiden.

In welchem Grade dieses Herauslösen der Purinbasen eintritt, suchten wir durch 2 Versuche festzustellen, bei denen Rindfleisch einerseits in kaltes, andrerseits in heißes Wasser eingelegt und damit einige Stunden gekocht wurde.

1. Ein Stück mageres Rindfleisch von 100 g mit 25,95 % Trockensubstanz wurde mit 300 ccm kaltem Wasser und 3 g Kochsalz aufgekocht und $2^1/_2$ Stunden lang gesotten unter ungefährer Ergänzung des verdampften Wassers. Dann goß man die Brühe ab. Man erhielt 56,7 g gekochtes Fleisch mit 42,52 % Trockensubstanzgehalt und einem Puringehalt von 0,0535 g. Die Fleischbrühe enthielt 0,0627 g Purin.

2. Ein Stück desselben Fleisches von ebenfalls 100 g Gewicht wurde in 300 ccm siedende 1 %ige Kochsalzlösung gegeben und wie oben $2^1/_2$ Stunden lang gekocht. Man erhielt 543 g gesottenes Fleisch mit 44,3 % Trockensubstanzgehalt und einem Puringehalt von 0,0505 g. Die Brühe enthielt 0,0600 g Purin.

In beiden Fällen ist nur wenig über die Hälfte der Purinbasen, 54,0 und 54,3 %, durch das Kochen ausgezogen worden. Obschon bei kaltem Einlegen bekanntlich mehr Eiweiß ausgezogen wird, finden wir doch keineswegs mehr Purin in der Brühe.

Nun pflegt man allerdings in der Küche bedeutend mehr Wasser zum Kochen des Rindfleisches zu verwenden, als ich hier aus praktischen Gründen genommen habe, meist wohl etwa 8 mal so viel wie Fleisch. Die im Fleisch zurückbleibende Brühe ist dann verdünnter. Die Rechnung zeigt, daß bei Verwendung von so viel Wasser ungefähr 58,5 % der Purinbasen ausgezogen worden wären, also nur unwesentlich mehr als bei unsern Versuchen.

Wir sehen also, daß durch das Kochen nicht viel mehr als die Hälfte der Purinbasen des Rindfleisches ausgezogen werden.

Es war von Interesse, auch bei purinreichen Gemüsen analoge Kochversuche durchzuführen. Wir arbeiteten mit Spinat und mit Blumenkohl.

100 g Spinat mit 12,35 % Trockensubstanz wurden mit 200 ccm Wasser und 3 g Kochsalz 30 Minuten lang unter Ergänzen des Wassers gekocht und die Brühe abgegossen. Man erhielt 85,3 g abgebrühten Spinat mit 0,0334 g Purin. In der Spinatbrühe fanden sich 0,0392 g Purinbasen.

Somit sind 54,0 % der Purinbasen ausgezogen worden. Das Resultat ist ungefähr dasselbe wie bei Rindfleisch.

Nun wurden 100 g Blumenkohl mit 13,34 % Trockensubstanz (ein halber Blumenkohl in einem Stück) mit 500 ccm Wasser und 5 g Kochsalz 30 Minuten lang gekocht und abgeseiht. Man erhielt 102 g abgebrühten Blumenkohl mit 0,0477 g Purin. In der Brühe fand man 0,00015 g Purin. Es wurden nur 0,05 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 bei der Titration verbraucht.

Bei Blumenkohl wird also bei $^1/_2$ stündigem Kochen praktisch kein Purin ausgezogen, wenigstens wenn der Kohl, wie in unserm Falle, in einem Stück gekocht wird.

Weitere Brühversuche wurden nicht unternommen. Es ist wahrscheinlich, daß sich Blattgewächse im allgemeinen, wie Spinat, Nahrungsmittel von festerem, dickerem Gefüge, wie etwa Stengelorgane u. dgl., mehr wie Blumenkohl verhalten.

Da eine weitgehende Entfernung der Purinbasen durch das Abbrühen nicht zu erzielen ist, dürfte es wohl für Gichtiker eher zu empfehlen sein, auf diese Maßnahme zu verzichten und die purinreichen Nahrungsmittel ganz zu meiden oder quantitativ sehr einzuschränken. Es erscheint fraglich, ob die durch Abbrühen ihrer wertvollsten Extraktivstoffe beraubten Nahrungsmittel für Patienten einen großen Wert haben.

Unsere Tabelle II gibt die Puringehalte, berechnet auf frische und auf wasserfreie Substanz, wieder. Die Nahrungsmittel wurden meist auf dem Berner Markte bezogen und sogleich in Arbeit genommen.

Nach der angewendeten Methode werden Kaffein und Theobromin nicht mitbestimmt. Bei den alkaloidhaltigen Genußmitteln sind deshalb in der 2. und 3. Kolonne die Purinbasen außer den genannten Alkaloiden zu verstehen. Die Alkaloide sind in der letzten Kolonne besonders angeführt,

Tabelle II.

		Trocken-substanz %	Puringehalt der frischen Substanz %	Puringehalt der Trocken-substanz %
	I. Tierische Produkte.			
1	Rind, Muskelfleisch	25,0	0,052	0,206
2	„ „	25,23	0,084	0,334
3	„ „	25,95	0,117	0,450
4	Dasselbe Fleisch, ausgekocht, auf frisches Fleisch ber.	—	0,054	—
5	Die entsprechende Fleischbrühe, auf frisches Fleisch ber.	—	0,063	—
6	Kalb, Muskelfleisch	22,07	0,103	0,466
7	Schaf, „	26,95	0,099	0,369
8	Schwein, Schinken, ohne Fett	27,00	0,150	0,556
9	Taube, Muskelfleisch und Haut	27,47	0,170	0,618
10	Rind, Blut	27,14	0,027	0,100
11	„ „	27,1	0,021	0,077
12	Kalb, „	30,42	0,117	0,387
13	Schaf, „	23,61	0.074	0,313
14	Rind, Fettgewebe	27,25	0,006	0,006
15	„ Großhirn	23,17	0,085	0,367
16	„ Kleinhirn	27,78	0,097	0,350
17	„ Rückenmark	32,58	0,060	0,184
18	„ Sehnen	37,99	0,031	0,081
19	„ Gelenkkopf	92,05	0,009	0,010
20	„ Röhrenknochen	89,80	0,007	0,007
21	„ Knochenmark	94,06	0,007	0,007
22	„ Kutteln, glatte	21,48	0,108	0,487
23	„ „ rauhe	16,32	0,116	0,711
24	„ Euter	19,82	0,087	0,595
25	„ Leber	28,84	0,201	0,707
26	„ Nieren	20,73	0,163	0,786
27	„ Nebennieren	21,39	0,383	1,791
28	„ Lunge	20,64	0,148	0,718
29	„ Milz	24,15	0,222	0,918
30	„ Milken	24,65	0,190	0,771
31	„ Lymphdrüsen	14,97	0,437	2,920
32	„ Eierstöcke	19,41	0,173	0,889
33	Fisch, Egli, mit Haut und Gräten, geschuppt	19,61	0,171	0,874
34	„ „ Fleisch	19,06	0,130	0,684
35	Froschschenkel, ohne Knochen	26,36	0,113	0,426
36	Krebse, in Konserven, ohne Schalen, zubereitet	32,17	0,138	0,428
37	Schnecken, fertig zubereitet, mit Zutaten	51,50	0,070	0,097
38	Kuhmilch	12,00	0,003	0,027
39	Käse, Emmenthaler	67,04	0,002	0,003
40	Hühnerei, Eiweiß	12,90	0,003	0,003
41	„ Eigelb	53,82	0,010	0,018
42	„ ganzes Ei	27,05	0,004	0,014
	II. Pflanzliche Produkte.			
	A. Cerealien.			
43	Weißmehl	91,53	0,014	0,015
44	Vollmehl, 92% ausgemahlen	90,63	0,049	0,054

		Trocken-substanz-gehalt %	Puringehalt der frischen Substanz %	Puringehalt der Trocken-substanz %
45	Weizen, ganzer	91,24	0,064	0,070
46	Weizenkleie	80,50	0,084	0,105
47	„ mit 11,1 % Stärke	92,84	0,135	0,146
48	„ vorwiegend Weizenkeime, mit 40,8 % Stärke	92,26	0,221	0,240
49	„ vorwiegend Aleuronschicht, sog. „ Jungfernhäutchen, mit 29,6 % Stärke	92,88	0,306	0,328
50	Grünkern (Spelz)	91,16	0,076	0,083
51	Roggen	90,80	0,057	0,063
52	Gerste	90,28	0,056	0,063
53	Haferflocken	93,47	0,064	0,068
54	Mais, ganzes Korn	90,95	0,037	0,044
55	Reis, sehr gut geschält	89,95	0,039	0,043
56	Reiskleie	89,98	0,104	0,116
57	Hirse, Panicum miliaceum	90,50	0,013	0,015
58	Kaffernhirse, Durrah	92,23	0,038	0,041
	B. Weitere stärkehaltige Früchte.			
59	Kastanien	55,15	0,035	0,063
	C. Leguminosen.			
60	Gelbe Erbsen	92,77	0,096	0,103
61	Kichererbsen, schwarze	91,92	0,133	0,145
62	Weiße Bohnen	90,00	0,095	0,106
63	Linsen	90,08	0,150	0,166
	D. Ölsamen.			
64	Wallnüsse (mit der Haut)	70,05	0,018	0,026
65	Haselnüsse „ „ „	96,45	0,021	0,022
66	Mandeln „ „ „	95,93	0,019	0,020
67	Erdnüsse, geröstet (ohne Haut)	98,92	0,070	0,071
	E. Knollen- und Wurzelgewächse.			
68	Kartoffel, Weltwunder	21,13	0,012	0,059
69	„ Amerikaner	20,72	0,011	0,054
70	Topinambour, Erdbirne	14,54	0,018	0,123
71	Stachys, Japanknollen	20,94	0,014	0,068
72	Kleine gelbe Rüben	12,02	0,017	0,137
73	Pfälzerrüben	11,22	0,006	0,051
74	Kohlraben	9,72	0,010	0,099
75	Rote Rettiche, Rahnen	12,24	0,011	0,088
76	Bierrettiche, weiße	8,85	0,012	0,131
77	„ braune	6,71	0,008	0,116
78	Radieschen	4,38	0,013	0,294
79	Rübkohl, weißer	7,39	0,016	0,216
80	„ roter	7,65	0,021	0,276
81	Schwarzwurzel	18,29	0,004	0,022
82	Selleriewurzel	14,39	0,022	0,152
	F. Gemüse.			
	a) Zwiebeln.			
83	Zwiebel, ohne Deckblätter	5,14	0,003	0,051
84	Fenchel, Basis der Stengelpartie	7,10	0,012	0,170

		Trockensubstanzgehalt %	Puringehalt der frischen Substanz %	Puringehalt der Trockensubstanz %
85	Knoblauch, geschält	34,00	0,018	0,052
86	Lauch	9,34	0,026	0,284
87	Schnittlauch	12,80	0,010	0,080
	b) Früchte, Samen und Samenschalen.			
88	Gurke	3,91	0,007	0,166
89	Kürbis, großer, ohne Samen	5,94	0,006	0,093
90	Flaschenkürbis, ganz	5,04	0,009	0,018
91	Tomaten	5,86	0,009	0,156
92	Aubergine	7,92	0,011	0,138
93	Schnittbohnen	13,03	0,039	0,298
	c) Kohlarten.			
94	Blumenkohl	10,29	0,036	0,344
95	"	9,44	0,047	0,494
96	"	13,34	0,048	0,357
97	Derselbe Blumenkohl, abgebrüht, auf frischen Kohl ber.	—	0,048	—
98	Die entsprechende Blumenkohlbrühe, auf frischen Kohl ber.	—	0,00015	—
99	Rosenkohl	14,06	0,040	0,295
100	"	18,81	0,060	0,319
101	Grünkohl	11,70	0,029	0,245
102	Weißkraut	7,38	0,011	0,149
103	Rotkraut	10,24	0,018	0,175
	d) Salat- und Spinatkräuter.			
104	Spinat	6,50	0,035	0,537
105	"	12,35	0,066	0,533
106	Derselbe Spinat, abgebrüht, auf frischen Spinat ber.	—	0,033	—
107	Die entsprechende Spinatbrühe, auf frischen Spinat ber.	—	0,033	—
108	Spinat, neuseeländischer	7,18	0,024	0,333
109	Löwenzahn	11,27	0,058	0,516
110	Lattich	6,70	0,021	0,307
111	Kopfsalat	4,64	0,031	0,669
112	Sonnenwirbel, Endivien	4,10	0,015	0,360
113	Nüßlikraut	10,36	0,032	0,313
	e) Blattstiele.			
114	Krautstiele, Mangoldstiele	5,19	0,005	0,098
115	Rhabarberstiele	6,84	0,009	0,113
	f) Blattgewürze.			
116	Sellerie, Blatteil	12,85	0,020	0,155
117	" "	10,82	0,027	0,249
118	Petersilie	10,26	0,037	0,355
119	Minze	19,38	0,039	0,201
120	Dill, Blätter und Stengel	9,86	0,027	0,275
	G. Schwämme.			
121	Eierschwamm	8,91	0,030	0,338
122	Trompetenpfifferling	7,62	0,014	0,179

		Trocken-substanz-gehalt %	Puringehalt der frischen Substanz %	Puringehalt der Trocken-substanz %
123	Totentrompete	11,20	0,019	0,173
124	Schafeuter	11,27	0,024	0,124
125	Gallertpilz	2,77	0,008	0,296
126	Habichtspilz (ohne Stoppeln)	9,33	0,019	0,228
127	Ziegenbart	9,33	0,034	0,367
	H. Obst- und Beerenfrüchte.			
128	Äpfel, saure, mit Schale, ohne Kernhaus	13,26	0,002	0,011
129	„ süße, „ „ „ „	17,55	0,002	0,010
130	Butterbirnen, „ „ „ „	13,21	0,002	0,016
131	Quitten, Birnenform, ganz	20,26	0,002	0,011
132	„ Äpfelform, ganz	17,38	0,004	0,020
133	Zwetschen, ohne Steine	18,40	0,003	0,017
134	Pflaumen, kleine, ohne Steine	19,04	0,003	0,016
135	Pfirsich, ohne Steine	19,14	0,003	0,017
136	Aprikosen, getrocknete, ohne Steine	84,04	0,013	0,016
137	Himbeeren	15,39	0,002	0,015
138	Heidelbeeren	10,90	0,004	0,032
139	Brombeeren	16,58	0,004	0,023
140	Preiselbeeren	14,84	0,003	0,018
141	Hollunderbeeren, schwarze	21,10	0,008	0,035
142	Walderdbeeren	12,28	0,011	0,089
143	Trauben, weiße	25,00	0,001	0,003
144	„ blaue	22,06	0,001	0,005
145	Hagebutten, ganze	51,46	0,003	0,006
146	Mandarinen, ohne Schale und Kerne	13,87	0,004	0,026
147	Orangen „ „ „ „	13,72	0,003	0,022
148	Zitrone, Saft	7,84	0,001	0,014
149	„ Fruchtfleisch, ausgepreßt ohne Kerne	15,29	0,007	0,044
150	„ Schale	29,25	0,003	0,008
151	Feigen, frische, grüne	17,05	0,006	0,033
152	Datteln, getrocknete, ohne Steine	77,17	0,011	0,015
	Anhang.			
153	Honig, Blüten- und Waldhonig	88,64	0,007	0,008
	J. Gewürze.			
154	Zimt	90,84	0,016	0,018
155	Gewürznelken	78,51	0,025	0,032
156	Pfeffer, weiß	89,56	0,006	0,006
157	Paprika, rote, milde Sorte, frisch	6,34	0,011	0,177
158	„ grüne „ „ „	7,08	0,012	0,162
159	Muskatnuß	92,64	0,028	0,030
	K. Getränke.			
160	Bier, helles, ohne Reiszusatz hergestellt	3,40	0,006	0,181
161	„ dunkles, mit „ „	3,97	0,005	0,129
162	Weißwein, französischer	1,50	0,0007	0,047
163	Rotwein, italienischer	2,10	0,0003	0,013
164	Obstwein, Äpfel- und Birnen-	3,52	0,0006	0,018
165	Weinessig, roter	1,88	0,0004	0,023

		Trockensubstanzgehalt	Purinbasen außer Coffein und Theobromin		Coffein bzw. Theobromin[1]
		%	%	%	%
	L. Alkaloidhaltige Genußmittel.				
166	Kaffee[2]), geröstet, brasilian. . . .	97,95	0,016	0,016	1—1,3
167	Tee[2]), chinesischer	93,39	0,101	0,108	1—3
168	Mate[2])	93,58	0,035	0,037	0,3—1,9
169	Kakao	94,04	0,041	0,043	1,3 – 1,7
170	Kakaoschalen	93,92	0,084	0,090	0,4—1,1

und zwar nicht nach eigenen Bestimmungen, sondern nach den Angaben von Königs Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel.

Bei den Purinbestimmungen von Kaffee, Tee und Mate wurden wässerige Auszüge verwendet, die auf folgende Weise bereitet wurden:

50 g Kaffee wurden mit 500 ccm Wasser aufgekocht, nach 10 Minuten durch eine Nutsche filtriert und der Rückstand mit 400 ccm siedendem Wasser nachgewaschen.

50 g Tee oder Mate wurden mit 1000 ccm siedendem Wasser übergossen, 10 Minuten auf dem Wasserbade ziehen gelassen, filtriert und der Rückstand noch 2 mal in der gleichen Weise ausgezogen.

Für die Reihenfolge der Nahrungsmittel richtete ich mich im großen und ganzen nach Königs „Chemie der Nahrungs- und Genußmittel".

Unter den tierischen Produkten sind auch einige Organe aufgeführt, die in der Regel nicht als Nahrungsmittel dienen, die aber wegen ihres Kernreichtums Interesse verdienen, wie Lymphdrüsen, Nebennieren, Eierstöcke. Immerhin können sich diese Organe gelegentlich in Würsten vorfinden. Einen hohen Puringehalt weisen alle innern Organe auf. Ihnen schließen sich an Fische, Geflügel, Muskelfleisch. Schon weniger Purin enthält Blut. Nahezu purinfrei sind Sehnen, Knochen, Knochenmark, Fett, Milch, Eier.

---

[1]) Nach Königs Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel.

[2]) Gehalt des wässerigen Auszuges.

Bei den pflanzlichen Nahrungsmitteln haben wir eine ebenso große Abwechslung wie bei den tierischen. Zur Vergleichung empfiehlt es sich, die auf Trockensubstanz berechneten Werte zu berücksichtigen. Die höchsten Gehalte finden wir bei den alkaloidhaltigen Genußmitteln, weil die betreffenden Alkaloide, Kaffein und Theobromin, zu den Purinbasen gehören. Außer den Alkaloiden sind hingegen nur geringe Purinmengen in diesen Produkten.

Nach den alkaloidhaltigen Genußmitteln finden sich in Gemüsen, und zwar in den Salat- und Spinatkräutern, am meisten Purinbasen. Auch die Kohlarten sind ziemlich reich daran. Ähnliche Zahlen liefern die Blattgewächse, die Schwämme, einige Knollen- und Wurzelgewächse, wie Bierrettich, Radieschen, Rübkohl, während andere Rüben und vor allem die Kartoffeln recht arm daran sind. Ziemlich purinarm sind die Leguminosen und noch ärmer die Cerealien. Das Purin hat hier seinen Sitz in der Aleuronschicht und im Keim. Weißmehl ist nahezu purinfrei. Unser gegenwärtiges schweizerisches „Vollmehl“ enthält 3 bis 4 mal mehr, der ganze Weizen ungefähr 5 mal mehr Purin. Bei der Kleie steigt der Gehalt auf das 7- bis 10fache, bei Weizenkeimen auf das 16 fache und bei dem sog. Jungfernhäutchen auf das 20 fache. Bei den Kleien nimmt der Puringehalt mit dem Stickstoffgehalt zu, wie folgende Zahlen zeigen:

	Protein %	Purin %
Weizenkleie	13,69	0,084
Weizenkeime	15,75	0,135
sog. Jungfernhäutchen . .	20,34	0,221

Die geringsten Puringehalte finden wir bei den Ölsamen, den Gewürzen und vor allem bei den Früchten und den daraus bereiteten Getränken. Man hätte erwarten können, daß bei der Gärung vielleicht aus der Hefe Purinbasen in Lösung gingen. Es tritt dies aber nicht in merkbarer Weise in Erscheinung. Auch bei der Tätigkeit des Essigpilzes läßt sich keine Purinabspaltung feststellen.

Über die Resorption des rectal eingeführten Traubenzuckers.

Von

Paul Hári und Aladár v. Halász.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest [Direktor: Paul Hári].)

(Eingegangen am 13. März 1918.)

Die Frage, ob Nährstoffe aus Klysmen resorbiert werden oder nicht, hat man auf verschiedene Weise zu beantworten gesucht. In den meisten Versuchen bediente man sich der sogen. „Auswaschungsmethode", bei der Klysma und der wiedergewonnene Mastdarminhalt bezüglich ihres Gehaltes an der betreffenden Substanz verglichen werden und das Defizit als resorbiert betrachtet wird. Eine wesentliche Unterstützung erfährt diese Methode bei der Untersuchung der Resorption von stickstoffhaltigen Nährstoffen dadurch, daß man das Verhalten des Harnstickstoffs quantitativ verfolgt, indem ein Plus an Harnstickstoff offenbar von resorbiertem und wieder zersetztem stickstoffhaltigen Material herrührt; denn an eine erhöhte Eiweißzersetzung infolge einer Reizwirkung durch die für gewöhnlich per rectum eingeführten Stoffe wird man ja nicht denken müssen.

Bezüglich der Resorption der Fette war es ein experimentum crucis, als Munk und Rosenstein[1]) in einem Falle von Lymphfistel den Fettgehalt der nach einem Fettklystier ausfließenden Lymphe auf das Mehrfache gesteigert sahen. —

---

[1]) J. Munk und A. Rosenstein, Zur Lehre von der Resorption im Darm nach Untersuchung an einer Lymph-(Chylus-)Fistel beim Menschen. Virchows Archiv **123**, 484, 1891.

Versuchstier I. Körpergewicht 3850 g. Datum 14. XII. 1908.
Vorher 3 Tage lang gehungert.

Nummer des Versuches	Anfang des Versuches	Dauer des Versuches	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang und Ende des Versuches	Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
1	10° 27′	16′ 06″	1417	2,76	1,97	39,10	27,94	0,714	{37,5 / 37,5}	85	
2	10° 53′	11′ 50″	1477	2,48	2,09	36,57	30,86	0,844	{37,5 / 37,4}	90	
3	11° 45′	12′ 05′	1418	2,71	2,17	38,46	30,81	0,800	{37,4 / 37,7}	107	
4	1° 10′	13′ 40″	1372	2,64	1,91	36,16	26,26	0,726	{37,0 / 37,0}	107	Um 1° 0′ wurden 22,5 g Traubenzucker in 15%iger Lös. per rectum eingegossen.
5	1° 35′	11′ 40″	1400	2,60	1,93	36,37	27,03	0,742	{37,0 / 37,0}	100	
6	2° 06′	15′ 45″	1428	2,45	1,94	34,94	27,70	0,792	{37,0 / 37,1}	85	
7	2° 28′	14′ 16″	1494	2,24	1,93	33,51	28,80	0,859	{37,3 / 37,4}	90	
8	2° 49′	14′ 52″	1366	2,25	1,97	30,72	26,92	0,875	{37,4 / 37,4}	87	
9	3° 0′	14′ 22″	1455	2,32	2,07	33,79	30,11	0,891	{37,4 / —}	55	
10	4° 11′	18′ 30″	1441	2,30	1,84	33,20	26,98	0,797	{37,6 / 37,6}	45	

Für gewöhnlich wird aber der Nachweis, daß Fett aus einem Klysma resorbiert wird, nur durch die Auswaschungsmethode zu erbringen sein, die aber, gerade infolge mancher Mängel der Fettextraktion keine ideale zu nennen ist. Versuche mit jodierten Fetten, die Jod an den Harn oder Speichel abgeben, führte auch nur zu einem recht bescheidenen Erfolg.

Die Resorption der Kohlenhydrate, namentlich der Zuckerarten, steht wohl außer Frage, doch gerade hier birgt die Auswaschungsmethode so manche Fehlerquellen, so z. B. die leichte Zersetzlichkeit des Zuckers durch Bakterienwirkung. — Auch läßt sich die erfolgte Resorption nicht auf so einfache Weise, wie etwa bei den Eiweißkörpern durch Verfolgung des Harnstickstoffs, nachweisen. Ein wertvolles Merkmal besitzen wir jedoch in dem Verhalten des Gaswechsels, resp. des respiratorischen Quotienten, welch letzterer sich dem Wert 1 nähern

Versuchstier II. Körpergewicht 4560 g. Datum 1. III. 1909.
Vorher 48 Stunden lang gehungert.

Nummer	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O_2-Abnahme	CO_2-Zunahme	O_2-Verbrauch	CO_2-Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang und Ende des Versuches	Blutdruck	Anmerkungen
des Versuches				in der Ventilationsluft		pro Minute					
			ccm	%	%	ccm	ccm			mm Hg	
1	9° 50′	10′ 10″	2042	1,81	1,37	37,02	27,32	0,738	38,2 / 38,0	112	
2	10° 17′	12′ 17″	1839	2,10	1,66	38,63	30,50	0,789	38,0 / 38,0	115	
3	10° 47′	11′ 52″	1864	2,13	1,59	38,40	28,70	0,748	38,2 / 38,2	105	
4	11° 52′	7′ 56″	1843	1,93	1,60	35,56	29,48	0,829	38,5 / 38,6	130	Um 11° 35′ wurden 25 g Traubenzucker in 25 %iger Lös. per rectum eingegossen.
5	12° 11′	8′ 00″	1852	1,94	1,73	36,00	31,98	0,888	38,7 / 38,8	125	
6	12° 28′	8′ 00″	1852	2,01	1,91	37,17	35,37	0,951	38,9 / 38,9	125	Im Harn kein Zucker.
7	12° 52′	11′ 17″	1844	2,00	1,95	38,09	35,94	0,944	39,0 / 39,0	130	
8	1° 08′	9′ 18″	1840	2,03	1,91	37,30	35,18	0,941	39,1 / 39,2	130	
9	3° 50′	9′ 01″	1791	2,17	1,78	38,95	31,84	0,817	39,1 / 39,2	107	Im Harn Zuckerreaktion stark positiv.
10	4° 52′	9′ 16″	1687	2,31	1,77	39,02	29,87	0,705	39,4 / 39,4	85	Im Harn Zuckerreaktion stark positiv.

muß, wenn Kohlenhydrate nach erfolgter Resorption der Verbrennung im Organismus anheimfallen. F. Reach[1]) hatte diesen Weg benutzt, um den direkten Beweis der Resorption von Kohlenhydraten aus den untersten Darmabschnitten zu erbringen, und tatsächlich gefunden, daß der respiratorische Quotient nach rectaler Einbringung verschiedener Zuckerarten merklich in die Höhe ging.

Wir steckten es uns — in Versuchen, die in dem genannten Institut zu einer Zeit ausgeführt wurden, als es noch unter Leitung des Prof. F. Tangl stand — zum Ziele, die Resorption von Traubenzucker aus den untersten Darmab-

[1]) Felix Reach, Über Resorption von Kohlenhydraten von der Schleimhaut des Rectums. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **47**, 231, 1902.

Versuchstier III. Körpergewicht 7950 g. Datum 3. III. 1909.
Vorher 36 Stunden lang gehungert.

Nummer des Versuches	Anfang des Versuches	Dauer des Versuches	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang und Ende des Versuches	Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
1	10° 03′	8′ 32″	1916	3,10	2,49	59,39	47,70	0,803	37,8 / 37,9	110	
2	10° 21′	8′ 34″	1955	2,97	2,36	58,02	46,21	0,796	38,0 / 38,1	110	
3	10° 39′	8′ 21″	1927	3,02	2,45	58,34	47,25	0,809	38,1 / 38,1	120	Im Harn kein Zucker.
4	11° 09′	8′ 16″	1929	2,94	2,40	56,81	46,27	0,814	38,5 / 38,3	107	Um 10° 56′ wurden 24 g Traubenzucker in 25 %iger Lös. per rectum eingegossen.
5	11° 30′	8′ 23″	1955	3,04	2,45	59,39	47,87	0,806	38,3 / 38,3	120	
6	11° 53′	8′ 00″	1994	2,79	2,43	55,57	48,55	0,873	38,4 / 38,5	130	
7	12° 21′	8′ 28″	2038	2,75	2,36	56,14	48,15	0,857	38,5 / 38,5	—	
8	12° 48′	8′ 20″	2061	2,72	2,39	56,04	49,22	0,878	38,6 / 38,6	130	
9	1° 11′	9′ 01″	1958	2,91	2,47	57,05	48,34	0,847	38,7 / 38,7	115	
10	2° 40′	9′ 40″	1777	3,25	2,58	57,79	45,81	0,792	38,8 / 38,8	117	
11	3° 43′	8′ 48″	1952	2,98	2,39	58,15	46,57	0,800	38,8 / 38,8	107	Im Harn Zuckerreaktion positiv.

schnitten an Hunden, u. z. nach Reachs Vorgang durch Bestimmung des Gaswechsels, resp. des respiratorischen Quotienten, zu prüfen. Es wurde hierzu die von F. Tangl[1]) seit langen Jahren verwendete, jedoch erst 1911 beschriebene Methodik am curaresiertem und künstlich ventiliertem Tiere verwendet, deren Einzelheiten hier zu beschreiben wir uns erübrigen können.

In Publikationen, die sich auf die Resorption aus Rectum und unterem Dickdarm beziehen, liest man hin und wieder den Einwurf, daß, wenn nach einem rectalen Einguß gewisse Bestandteile des Klysmas resorbiert werden, dies nur so zu-

[1]) Franz Tangl, Die Arbeit der Nieren und die „spezifisch-dynamische Wirkung" der Nährstoffe. Diese Zeitschr. 34, 7, 1911.

Versuchstier IV. Körpergewicht 6250 g. Datum 30. III. 1909.
Vorher 36 Stunden lang gehungert.

Nummer des Versuches	Anfang des Versuches	Dauer des Versuches	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang und Ende des Versuches	Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
1	11° 12′	11′ 36″	1343	2,94	2,18	39,56	29,22	0,739	38,6 / 38,6	85	
2	11° 32′	11′ 17″	1356	2,82	2,25	38,18	30,48	0,798	38,6 / 38,6	95	
3	11° 52′	11′ 12″	1389	2,79	2,12	38,77	29,46	0,759	38,6 / 38,6	100	
4	12° 23′	10′ 35″	1466	2,40	1,94	35,22	28,47	0,808	38,6 / 38,6	105	Um 12°19′ wurd. ca. 14 g Traubenzucker in 20%iger Lös. per rectum eingegossen.
5	12° 50′	10′ 14″	1485	2,55	2,14	37,88	31,83	0,840	38,6 / 38,6	115	
6	1° 0′	10′ 58″	1430	2,77	2,27	39,55	32,43	0,819	38,6 / 38,6	120	
7	1° 35′	13′ 14″	1430	2,41	1,97	34,01	27,76	0,816	38,6 / 38,6	100	
8	3° 51′	11′ 48″	1455	2,69	1,94	39,21	28,20	0,719	38,6 / 38,6	115	
9	4° 47′	11′ 53″	1513	2,58	1,99	39,00	30,09	0,771	37,1 / 37,2	115	
10	5° 55′	11′ 30″	1413	2,60	1,96	36,78	27,69	0,752	37,0 / 37,0	120	Im Harn Spuren von Zucker.

stande gekommen ist, daß das Klysma proximalwärts von der Ileocöcalklappe gelangt und demzufolge die Resorption nicht durch die Schleimhaut des Dickdarmes, sondern durch die des Dünndarmes erfolgt sei. Bezüglich der therapeutischen Verwertbarkeit eines Nährklysmas ist es natürlich gleichgültig, ob die Resorption nach einem Rectaleinlauf von einem höheren oder tieferen Abschnitt der Darmschleimhaut erfolgt; für unseren Standpunkt, der speziell auf die Frage gerichtet ist, ob den untersten Darmabschnitten eine resorbierende Fähigkeit bezüglich der Kohlenhydrate zukommt oder nicht, kann es natürlich nicht einerlei sein. Wir mußten daher in unseren Versuchen die Möglichkeit einer Resorption von seiten des Dünndarmes, so unwahrscheinlich auch diese war, ausschließen, und haben dies dadurch erreicht, daß an den Tieren vor Beginn der Versuche nach Eröffnung der Bauchhöhle der Darm recht weit

Versuchstier V. Körpergewicht 5750 g. Datum 2. IV. 1909.
Vorher 36 Stunden lang gehungert.

Nummer des Versuches	Anfang des Versuches	Dauer des Versuches	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang und Ende des Versuches	Blutdruck[1]	Anmerkungen
1	9° 16′	11′ 37″	1382	3,33	2,82	46,47	38,97	0,847	37,8 / 37,8		
2	9° 42′	10′ 45″	1425	2,97	2,43	42,33	34,57	0,816	37,6 / 37,5		
3	9° 58′	10′ 34″	1490	3,13	2,59	46,68	38,51	0,825	37,4 / 37,4		
4	10° 16′	11′ 00″	1427	3,24	2,73	46,31	38,94	0,841	37,4 / 37,4		
5	10° 46′	11′ 15″	1452	3,16	2,73	45,84	39,65	0,805	37,3 / 37,3		Um 10° 38′ wurden 27 g Traubenzucker in 30%iger Lös. per rectum eingegossen.
6	11° 11′	11′ 14″	1446	3,24	2,73	46,79	39,45	0,843	37,2 / 37,2		
7	11° 32′	11′ 43″	1357	3,27	2,72	44,44	36,90	0,830	37,0 / 37,0		
8	11° 57′	11′ 31″	1456	3,24	2,69	47,15	39,21	0,831	37,0 / 37,0		
9	12° 20′	11′ 00″	1498	3,07	2,59	45,96	38,74	0,842	36,9 / 36,9		
10	12° 45′	10′ 44″	1433	3,22	2,48	46,13	35,51	0,769	36,8 / 36,9		
11	3° 34′	11′ 08″	1518	3,28	2,40	49,79	36,45	0,732	36,8 / 36,9		
12	4° 00′	11′ 34″	1384	3,48	2,46	48,21	34,04	0,706	36,8 / 36,9		

unterhalb der Ileocöcalklappe doppelt unterbunden wurde, und dann nach den üblichen „Normalversuchen“ die 15 bis 30%ige Zuckerlösung 40° warm, durch einen per rectum tief eingeführten Schlauch eingegossen wurde.

Die Länge des abgebundenen Darmabschnitts von der Ligatur bis zum Rectum betrug durchschnittlich 15 bis 17 cm. Ursprünglich war geplant, die Zuckerresorption auch nach der Auswaschungsmethode zu kontrollieren, und diese wurde auch in den meisten Fällen ausgeführt. Die Ligatur am Dickdarm hatte, wie wir uns nach dem Abschlus der Versuche jedesmal

[1]) Der Blutdruck blieb während der ganzen Versuchsdauer gleichmäßig normal hoch. Das Ausmessen der Kurve wurde seinerzeit versäumt und konnte jetzt nicht mehr nachgeholt werden.

Versuchstier VI. Körpergewicht 6800 g. Datum 20. IV. 1909.
Vorher 40 Stunden lang gehungert.

Nummer des Versuches	Anfang des Versuches	Dauer des Versuches	Atemvolum pro Minute ccm	O_2-Abnahme in der Ventilationsluft %	CO_2-Zunahme in der Ventilationsluft %	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	CO_2-Ausgabe pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertemperatur am Anfang und Ende des Versuches	Blutdruck[1]	Anmerkungen
1	9° 38′	8′ 14″	1979	2,66	1,97	52,64	38,98	0,742	36,3 / 36,3		
2	10° 48′	8′ 15″	2083	2,63	1,96	54,76	40,80	0,745	36,4 / 36,4		
3	11° 28′	8′ 18″	2054	2,67	2,05	54,98	42,04	0,764	36,3 / 36,2		Um 11° 20′ wurden 30 g Traubenzucker in 20%iger Lös. per rectum eingegossen.
4	11° 50′	8′ 41″	2089	2,66	2,13	55,60	44,41	0,798	36,2 / 36,2		
5	12° 11′	7′ 40″	2058	2,64	2,10	54,14	43,17	0,795	36,3 / 36,4		
6	12° 34′	8′ 00″	2099	2,55	2,05	53,50	44,05	0,805	36,4 / 36,4		
7	12° 53′	8′ 22″	2090	2,45	2,01	51,25	42,03	0,820	36,4 / 36,4		
8	3° 52′	8′ 33″	2036	2,59	2,11	52,69	43,02	0,810	36,7 / 36,8		
9	4° 17′	8′ 58″	2005	2,66	2,20	53,43	44,17	0,826	36,9 / 36,9		
10	4° 40′	8′ 46″	2010	2,73	2,17	54,81	43,63	0,796	37,0 / 37,0		

überzeugten, innen festgehalten; weit weniger gelang uns aber der Abschluß des Rectums. Beinahe in jedem Versuche war uns da bald mehr, bald weniger Flüssigkeit neben dem Schlauch hervorgequollen, sogar wenn die hervorgezogene Rectalschleimhaut fest um den Schlauch ligiert wurde. Die Ergebnisse dieser Analysen waren also nicht zu verwerten.

Was nun die Ergebnisse dieser Versuche anbelangt, war mit Ausnahme des Tieres V in allen übrigen der respiratorische Quotient nach der Zuckereingießung mehr oder minder stark in die Höhe gegangen. Das abweichende Verhalten des Tieres V war aber sehr wohl dadurch begründet, daß das obenerwähnte Versagen des Rectalverschlusses hier besonders störend auftrat,

[1]) Der Blutdruck blieb während der ganzen Versuchsdauer gleichmäßig normal hoch. Das Ausmessen der Kurve wurde seinerzeit versäumt und konnte jetzt nicht mehr nachgeholt werden.

indem laut dem Versuchsprotokoll der weitaus größte Teil der Flüssigkeit neben dem Rectalschlauch ausgeflossen war, so daß offenbar gar kein Zucker zur Resorption kommen konnte. An den übrigen Tieren konnte das Ansteigen des respiratorischen Quotienten innerhalb $^1/_4$ bis $1^1/_2$ Stunden nach der Zuckereingießung, und, was besonders lehrreich und beweisend war, an einigen Tieren (II, III und IV) die nach einiger Zeit wieder einsetzende Verringerung des Quotienten beobachtet werden. Letzterer Umstand darf wohl so gedeutet werden, daß zu dieser Zeit die Resorption, mithin auch die Verbrennung des Traubenzuckers allmählich aufzuhören begann.

Es ist durch die besprochenen Versuche, in denen eine Resorption von seiten des Dünndarmes ausgeschlossen war, bewiesen, daß Traubenzucker von der Dickdarmschleimhaut in solchen Mengen aufgenommen wird, daß Zucker einerseits unverbrannt im Harn erscheinen kann, anderseits nach erfolgter Resorption verbrannt wird, wodurch eine Steigerung des respiratorischen Quotienten zustande kommt.

Wäre die Resorptionsgeschwindigkeit und das Ausmaß der Resorption derartig, wie von seiten der Dünndarmschleimhaut nach Einbringung der Zuckerlösung per os, so würde, wie dies für letzteren Fall wiederholt, so auch von einem von uns[1]) bewiesen wurde, eine Steigerung des Energieverbrauches, resp. des Sauerstoffverbrauches zu konstatieren gewesen sein. Der Umstand, daß dies nicht der Fall gewesen ist, ja, sogar oft eine geringe Herabsetzung des Sauerstoffverbrauches eintrat, beweist eben, daß die Resorption des Zuckers von seiten der Dickdarmschleimhaut langsamer als durch die des Dünndarmes erfolgt.

(Da im Falle eines höheren respiratorischen Quotienten auch der calorische Wert des verbrauchten Sauerstoffes ein höherer ist, läßt sich aus dem verringerten Sauerstoffverbrauch natürlich nicht auf eine Herabsetzung des Energieumsatzes folgern.)

---

[1]) Paul Hári, Zur Kenntnis des Einflusses der Kohlenhydrate auf den Energieumsatz. Diese Zeitschr. **44**, 66, 1912.

Weitere Beiträge zum Stoff- und Energieumsatz der Vögel.

Von

Paul Hári und Alexander Kriwuscha (Kiew).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest [Direktor: Paul Hári].)

(Eingegangen am 13. März 1918.)

Die nachfolgenden, an Enten — zu einer Zeit wo das oben genannte Institut noch unter der Leitung des Prof. F. Tangl gestanden hatte — ausgeführten Versuche sollen als Ergänzung derjenigen dienen, die der eine von uns [Hári][1]) an Gänsen ausgeführt und vor kurzem in dieser Zeitschrift veröffentlicht hatte.

Inwieweit die Erwartung, daß sich beide einander so nahestehende Tierarten auch bezüglich ihres Stoffwechsels und Energieumsatzes ähnlich verhalten, soll in nachstehendem gezeigt werden.

Versuchseinrichtung.

Die zwei Enten A und B, die diesen Versuchen dienten, waren nicht ganz ausgewachsene, vorher nicht gemästete Tiere. Um Harn und Kot getrennt auffangen zu können, wurde ein Anus präternaturalis angelegt und je ein Kautschukbeutel an der Kloake und am künstlichen Anus so befestigt, daß jeder Verlust von Exkreten ausgeschlossen war.

In einem Teil der Versuche beschränkten wir uns bloß auf die Analyse von Harn und Kot, in anderen Versuchen wurde auch der Gaswechsel der Tiere und ihr Energieumsatz bestimmt. Zu letzterem Behufe bedienten wir uns des Tangl-

[1]) Paul Hári, Beiträge zum Stoff- und Energieumsatz der Vögel. Diese Zeitschr. 78, 313, 1917.

schen Respirationscalorimeters, dessen kleineres Modell vor einiger Zeit beschrieben wurde[1]).

Bezüglich aller sonstigen Details der N-, C-, Energiebestimmung usw. verweisen wir, um Wiederholungen zu vermeiden, auf frühere Publikationen des einen von uns (Hári) in dieser Zeitschrift.

Zu bemerken ist nur, daß der Sauerstoffverbrauch nicht direkt bestimmt, sondern aus den Ausgaben des Tieres und seiner Gewichtsveränderung berechnet wurde und daß die Dauer der calorimetrischen Versuche jeweils 17 bis 19 Stunden betrug.

Die Versuche wurden zum Teil am Hungertier ausgeführt, in anderen Versuchen wurden die Tiere in gefüttertem Zustande untersucht.

Hungerversuche.

Die Hungertiere erhielten bloß Wasser vorgesetzt, von dem sie täglich durchschnittlich 200 bis 280 g zu sich nahmen. An den Tagen, wo an ihnen calorimetrische Versuche vorgenommen wurden, erhielten sie das Wasser unmittelbar nach Abschluß des einen, also einige Stunden vor dem Beginne des nächsten Versuches.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse derjenigen Versuche, in denen auch die Wärmeproduktion bestimmt wurde, sind in den Tabellen I bis IV zusammengestellt. Tabelle I enthält die allgemeinen Daten, Tabelle II die auf 1 kg Körpergewicht und 1 qm Körperoberfläche[2]) reduzierten Werte des 24stündigen Gaswechsels, Tabelle III die des N-, C-Umsatzes und die Berechnung des Energieumsatzes aus den Zersetzungen (indirekte Calorimetrie), Tabelle IV die Daten der direkten Calorimetrie.

---

[1]) F. Tangl, Ein Calorimeter für kleine Tiere. Diese Zeitschr. 53, 21, 1913.

[2]) Konstante wie bei der Gans = 10,45.

Tabelle I.

Allgemeine Daten der Versuche.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Wievielter Hungertag	Datum des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation; cbm	Mittlere Temperatur des Tierraumes	Körpertemperatur am Beginne d. Versuchs	Körpertemperatur am Ende d. Versuchs	Bruttokörpergewicht[1] am Beginne d. Versuchs	Bruttokörpergewicht[1] am Ende d. Versuchs	Mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2	Mit der Ventilationsluft abgeführt H_2O	O_2-Verbrauch (berechnet)	RQ
					Stdn.			g	g	g	g	g	g	g	
II	4	4	9. bis 10. VI. 1913	4^h 07′ Vm	17^{50}	30	22,0	40,3	40,4	1118,7	1100,2	20,8	16,2	18,5	0,816
	5	5	10. „ 11. VI. 1913	4^h 46′ „	17^{07}	29	21,8	41,0	40,9	1126,7	1056,7	21,7	18,1	18,8	0,840
	6	6	11. „ 12. VI. 1913	5^h 00′ „	17^{42}	30	22,1	40,6	41,0	1056,7	1034,0	19,8	22,5	20,1	0,700
IV	10	3	12. „ 13. VI. 1913	4^h 45′ „	17^{67}	32	21,5	40,1	39,0	906,0	886,8	16,4	18,0	15,2	0,708
	11	7	13. „ 14. VI. 1913	4^h 32′ „	19^{17}	33	21,2	40,6	39,9	879,7	862,4	16,9	12,8 (?)	12,4	0,976

Tabelle II.

H_2O-Abgabe, CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch pro 1 kg und 1 qm.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Nettokörpergewicht[2]) am Beginn d. Versuchs	Pro 24 Stunden: mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2	Pro 24 Stunden: mit der Ventilationsluft abgeführt H_2O	Pro 24 Stunden: O_2-Verbrauch	pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht: mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2	pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht: mit der Ventilationsluft abgeführt H_2O	pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht: O_2-Verbrauch	pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche: mit der Ventilationsluft abgeführt CO_2	pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche: mit der Ventilationsluft abgeführt H_2O	pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche: O_2-Verbrauch
		g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
II	4	1025,7	28,5	22,2	25,4	27,8	21,7	24,7	268	209	239
	5	1033,7	30,5	25,4	26,4	29,5	24,6	25,6	286	238	247
	6	963,7	27,8	31,0	27,7	28,9	32,2	28,7	273	304	272
IV	10	813,0	22,3	24,4	20,6	27,4	30,1	25,4	244	269	227
	11	786,7	21,1	16,0	15,5	26,8	20,4	19,7	237	180 (?)	174 (?)

Tabelle III.

24 stündiger N-, C-Umsatz und Wärmeproduktion (berechnet).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Nettokörpergewicht[3]) am Beginne des Versuchs	Stickstoff im Harn	Stickstoff im Kot	C-Ausfuhr im Harn	C-Ausfuhr im Kot	C-Ausfuhr im ausgegebenen CO_2	C-Ausfuhr zusammen	Körpereiweiß zersetzt	Körperfett zersetzt	(a) Chem. Energiegehalt d. zersetzten Eiweiß	(a) Chem. Energiegehalt d. zersetzten Fettes	(a) Chem. Energiegehalt zusammen	(b) Energiegehalt d. Harns	(b) Energiegehalt d. Kotes	(b) Energiegehalt zusammen	Wärmeproduktion pro 24 Std. (a − b)	Wärmeproduktion pro 24 Std. und 1 kg Körpergew.	Wärmeproduktion pro 24 Std. und 1 qm Körperoberfläche
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.
II	4	1025,7	0,28	0,03	0,16	0,32	7,77	8,25	1,94	9,40	11,0	85,4	99,4	2,0	2,5	4,5	94,9	92,4	892
	5	1033,7	0,28	0,03	0,16	0,32	8,33	8,81	1,94	10,13	11,0	95,2	106,2	2,0	2,5	4,5	101,7	98,4	952
	6	963,7	0,28	0,03	0,16	0,32	7,59	8,07	1,94	9,16	11,0	86,1	97,1	2,0	2,5	4,5	92,6	96,1	908
IV	10	813,0	0,34	0,03	0,20	0,29	6,07	6,56	2,31	6,95	13,1	65,3	78,4	2,3	2,1	4,4	74,0	91,0	813
	11	786,7	0,34	0,03	0,20	0,29	5,76	6,25	2,31	6,55	13,1	61,6	74,6	2,3	2,1	4,4	70,2	89,2	788

[1]) Inklusive Harn- und Kotbeutel.

[2]) Ohne Harn- und Kotbeutel.

[3]) Ohne Harn- und Kotbeutel.

Tabelle IV.
Direkte Calorimetrie.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Wievielter Hungertag	Nettokörpergewicht[1]) am Beginne d. Versuchs g	Wärmeabgabe: an das Calorimeter abgegeben kg-Cal.	mit der Ventilationsluft abgeführt kg-Cal.	Verdampfungswärme des Wasserdampfes i. d. Ventilationsluft kg-Cal.	Gesamte Wärmeabgabe (A) kg-Cal.	Die Gewichts- u. Temperaturveränderung d. Tieres erfordert eine Korrektion von kg-Cal.	Wärmeproduktion (A – B.) kg-Cal.	Wärmeproduktion pro 24 Stunden u. 1 kg Körpergewicht kg-Cal.	1 qm Körperoberfläche kg-Cal.
II	4	4	1025,7	57,6	21,3	13,1	92,0	– 0,5	91,5	89,1	860
	5	5	1033,7	63,0	18,0	15,0	96,1	– 0,8	95,3	92,2	892
	6	6	963,7	61,2	18,8	18,3	98,3	– 1,2	97,1	100,8	952
IV	10	3	813,0	40,4	15,9	14,5	70,4	– 1,0	69,4	85,4	762
	11	4	786,7	41,0	13,6	9,5	64,1	– 1,0	63,1	80,3	709

Der Gewichtsverlust im Hungerzustand. Die Tiere wurden am Beginn und am Ende eines jeden calorimetrischen Versuches mitsamt den beiden Kautschukbeuteln gewogen. Dies hatte den Vorteil, daß von den mannigfaltigen Fehlerquellen, die einer genauen Berechnung des O_2-Verbrauches sonst hinderlich im Wege stehen, wenigstens die eine, die beim gesonderten Abwägen der Entleerungen figuriert, vermieden war. Leider wurden jedoch die Entleerungen innerhalb je einer Versuchsreihe nicht täglich, sondern bloß am Schlusse jeder Versuchsreihe gewogen; daher blieb das reine Körpergewicht zu Ende jedes einzelnen Versuches unbekannt, und konnten die Reduktionen auf die Körpergewichtseinheit nicht auf Grund des mittleren Körpergewichtes, sondern nur auf Grund des Gewichts am Anfang jedes Versuches (Tier minus Kautschukbeutel) vorgenommen werden.

Tier A büßte in 48 Stunden täglich 3,0%, Tier B in 24 Stunden 3,2% seines Anfangsgewichtes ein. Es ist dies mehr, als von den Gänsen in der genannten Publikation diejenigen, die, wie die Enten, Wasser erhielten, verloren (1,4 bis 1,8%). Das Plus entspricht jedenfalls dem relativ regeren Stoffwechsel der wesentlich leichteren Enten, wie weiter unten gezeigt werden wird.

Die Körpertemperatur bewegte sich zwischen 39,9 und 41,0° (einmal wurde 39,0° gemessen), also wie an den Gänsen.

[1]) Ohne Harn- und Kotbeutel.

Diese Zahlen entsprechen durchaus den an Vögeln allgemein beobachteten höheren Normaltemperaturen.

Über Wasserdampfabgabe, CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch erhalten wir Aufschluß aus nachstehender Zusammenstellung, in der alle Werte auf 1 qm der Körperfläche bezogen und mit den entsprechenden Werten der Gänseversuche verglichen sind[1]).

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur °	Pro 1 qm Körperoberfläche g		
			H_2O	CO_2	O_2
Ente A	II	22	250	276	253
„ B	IV	22	224	240	200
Gans A	V	16	286	231	217
„ B	VI	16	280	237	229

Es ist ersichtlich, daß die Wasserdampfabgabe im großen und ganzen Werte von derselben Größenordnung aufweist wie in den Gänseversuchen. (Bemerkt sei, daß in Versuch 11 die Bestimmung des Wasserdampfes, für den sich ein ganz aus der Reihe springender Wert ergeben hatte, offenbar mit einem Fehler behaftet ist, demzufolge auch der berechnete O_2-Verbrauch, der RQ, sowie zu einem geringeren Grade auch die direkt bestimmte Wärmeproduktion fehlerhaft sein dürften.)

CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch sind an Ente A wesentlich größer als an Ente B, an A auch größer als an beiden Gänsen. Wir werden sehen, daß dies Verhalten dem der Wärmeproduktion entspricht.

Der respiratorische Quotient trägt die Merkmale der Fehler, die einer Berechnung des O_2-Verbrauches naturgemäß innewohnen. Denn es läßt sich nicht verkennen, daß Werte wie 0,816 (Versuch 4) und 0,840 (Versuch 5) etwas zu hoch sind für den 4. bzw. 5. Hungertag; gar nicht zu reden vom Wert 0,976 (Versuch 11), von dem wir bereits erwähnten, daß er zufolge eines Mangels in der Bestimmung des ausgegebenen Wasserdampfes fehlerhaft sein dürfte.

[1]) Um diesen Vergleich überhaupt anstellen zu können, konnten die auf 1 kg Körpergewicht reduzierten Werte nicht verwendet werden, denn naturgemäß waren dieselben an den Enten, deren Gewicht durchschnittlich bloß $^1/_8$ von dem der Gänse betrug, wesentlich größer. Hier und an vielen anderen Stellen sind die Gänseversuche, die bei oder in der Nähe der kritischen Temperaturgrenze ausgeführt wurden, nicht berücksichtigt.

Harn und Kot. Da an den Enten, wie erwähnt, Harn und Kot getrennt gesammelt wurden, war eine eingehendere Analyse möglich als in den Gänseversuchen. In nachstehender Tabelle V sind außer den betreffenden Daten der bisher besprochenen Versuchsreihen II und IV auch die Hungerversuchsreihen I und III aufgenommen, in denen bloß Harn und Kot (der Gaswechsel jedoch nicht) untersucht wurden, und die den oben erwähnten zeitlich vorangingen.

N-Ausscheidung. In nachstehender Zusammenstellung ist Harn- und Kot-N, um einen Vergleich mit den Gänseversuchen ausführen zu können, vereinigt und auf 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht reduziert.

Es hatten ausgeschieden in Harn und Kot:

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur °	N g
Ente A	I	22	0,32
" "	II	22	0,31
" B	III	22	0,36
" "	IV	22	0,46
Gans A	V	16	0,29
" B	VI	16	0,20
Gans A	I	27	0,16
" B	II	27	0,17
" C	III	27	0,37
" D	IV	27	0,40

In Tabelle V ist auch der N-, C- und Energiegehalt des lufttrockenen Rückstandes von Harn und Kot der Enten berechnet; um jedoch einen Vergleich mit den betreffenden Daten der Gänseversuche anstellen zu können, haben wir in nachfolgender Zusammenstellung eine weitere Berechnung so ausgeführt, wie wenn Harn und Kot nicht getrennt aufgefangen worden wären.

100 g lufttrockener Harn plus Kot enthalten:

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur °	N g	C g	Chem. Energie kg-Cal.
Ente A	I	22	21,2	27,3	283
" A	II	22	18,6	28,8	271
" B	III	22	21,4	26,6	294
" B	IV	22	21,7	28,9	263
		Mittelwerte:	21,0	27,9	278

Tabelle V.

Menge und Zusammensetzung der Entleerungen.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht	24 stündiger Harn					24 stündiger Kot					100 g lufttrock. Harns enthalt.			100 g lufttrock. Kots enthalten			Cal. : N	
					trocken	N	C	Chem. Energie	feucht	trocken	N	C	Chem. Energie	N	C	Chem. Energie	N	C	Chem. Energie	im Harn	im Kot
			g	ccm	g	g	g	kg-Cal.	g	g	g	g	kg-Cal.	g	g	kg-Cal.	g	g	kg-Cal.		
I	1	7. bis 8. IV. 1913	1136	90	1,16	0,30	0,29	2,66	2,7	0,50	0,024	0,17	2,04	25,8	23,8	229	4,8	33,6	408	8,8	85
	2	8. " 9. IV. 1913	1107	60	1,10	0,36	0,27	2,53	2,7	0,50	0,024	0,17	2,04	32,7	24,7	230	4,8	33,6	408	7,0	85
	3	9. " 10. IV. 1913	1171	100	1,25	0,33	0,31	2,87	2,7	0,50	0,024	0,17	2,04	26,4	24,7	230	4,8	33,6	408	8,7	85
II	4—6	9. " 12. VI. 1913	1026—964	153	0,97	0,28	0,16	2,00	2,5	0,68	0,03	0,32	2,50	28,4	16,3	205	4,6	46,5	366	7,3	80
III	7	15. " 16. IV. 1913	868	60	1,01	0,30	0,25	2,55	3,0	0,45	0,021	0,14	1,73	29,2	24,7	252	4,5	30,5	385	8,6	84
	8	16. " 17. IV. 1913	863	80	1,10	0,30	0,27	2,78	3,0	0,45	0,021	0,14	1,73	27,7	24,8	253	4,5	30,5	385	9,1	84
	9	17. " 18. IV. 1913	845	55	0,95	0,28	0,24	2,40	3,0	0,45	0,021	0,14	1,73	29,4	24,8	253	4,5	30,5	385	8,6	84
IV	10, 11	12. " 14. VI. 1913	813—787	190	1,10	0,34	0,20	2,30	2,6	0,60	0,03	0,29	2,10	30,8	18,4	210	4,9	48,0	360	6,8	74

100 g lufttrockener Harn plus Kot enthalten:

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur °	N g	C g	Chem. Energie kg-Cal.
Gans A	V	16	23,5	35,0	313
„ B	VI	16	22,1	36,7	322
„ A	I	27	21,2	32,7	324
„ B	II	27	22,7	34,0	317
„ C	III	27	16,6	22,9	?
„ D	IV	27	21,5	31,9	304
		Mittelwert:	21,2	**32,2**	**316**

Man sieht, daß die Übereinstimmung zwischen beiden Enten durchweg gut, mit den Gänsen bezüglich des N-Gehaltes eine vorzügliche, im C- und Energiegehalt eine annähernde ist.

Cal.:N. Wir müssen zum Schluß des Quotienten Cal.:N im Harn gedenken, der in allen Entenversuchsreihen ähnliche Werte, 6,8 bis 9,1, aufweist, die wir in Hundeversuchen zu sehen gewöhnt sind.

Da in den Gänseversuchen auch dieser Quotient im vermischten Harn und Kot bestimmt wurde, haben wir, um einen Vergleich anstellen zu können, die Daten in Tabelle V entsprechend umgerechnet. Dabei ergeben sich für den Quotienten Cal.:N folgende Werte:

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur °	Cal. : N
Ente A	I	22	13,3
„ A	II	22	14,6
„ B	III	22	13,7
„ B	IV	22	12,1
Gans A	V	16	13,8
„ B	VI	16	19,6
„ A	I	27	15,7
„ B	II	27	14,2
„ D	IV	27	14,2

Die Übereinstimmung ist mit Ausnahme der Gansversuchsreihe VI, die auch aus der Reihe der übrigen Gänseversuche springt, eine vorzügliche, läßt daher annehmen, daß auch der Quotient Cal.:N im Gänseharn einen ähnlichen Wert hat wie im Entenharn.

Der Energieumsatz. Die kaum zu vermeidenden Versuchsfehler machen es begreiflich, daß in unseren calorimetrischen

Versuchen, in denen die absoluten Werte recht klein sind, die Übereinstimmung zwischen der berechneten und direkt bestimmten Wärmeproduktion oft keine besonders gute ist. Zieht man jedoch innerhalb jeder Versuchsreihe den Mittelwert, so gestaltet sich das Resultat etwas besser; allerdings nicht immer so gut, wie dies an den meisten Gänseversuchen der Fall war.

Die Wärmeproduktion betrug in kg-Cal.:

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur 0	Bestimmt	Berechnet
Ente A	II	22	95	96
" B	IV	22	66	72
Gans A	V	16	157	153
" B	VI	16	169	170
" A	I	27	158	159
" B	II	27	143	151
" C	III	27	273	272
" D	IV	27	255	253

Was nun den Energieumsatz selbst anbelangt, wollen wir bei unseren Betrachtungen immer von den direkt bestimmten und auf 1 qm der Körperoberfläche reduzierten Werten ausgehen und mit den an den Gänseversuchen erhaltenen vergleichen.

Die Wärmeproduktion betrug pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche:

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur 0	kg-Cal.
Ente A	II	22	935
" B	IV	22	735
Gans A	V	16	793
" B	VI	16	793

Der Unterschied im Energieumsatz der Enten A und B ist sehr bedeutend, indem A 27 % mehr Wärme produziert als B. Dies entspricht genau dem Verhalten des O_2-Verbrauchs, der an Ente A um 26 % größer als an Ente B gefunden wurde.

Mit den Gänsen verglichen, setzt Ente A um 18 % mehr, Ente B um 7 % weniger Energie um als die Gänse; entsprechend dem O_2-Verbrauch, der an Ente A größer, an Ente B kleiner als an den Gänsen war.

Die geringere Wärmeproduktion der Ente B im Vergleich zu den Gänsen ließe sich noch dadurch erklären, daß die Enten bei einer um 6° höheren Umgebungstemperatur untersucht wurden, demzufolge die Oxydationen eine Einschränkung erfuhren. Um so weniger ist der weit höhere Umsatz der Ente A zu begreifen, die überdies während der calorimetrischen Versuche keineswegs weniger ruhig als die andere war.

Es müssen also hier individuelle Unterschiede vorliegen, wie solche seinerzeit an den Gänsen gefunden wurden, indem Gans A und B bei 27° 715 bzw. 682, Gans C und D bei derselben Umgebungstemperatur 1035 bzw. 1038 kg-Cal. pro 1 qm der Körperoberfläche umsetzten.

Als mögliche Ursache dieses Unterschiedes konnte an den Gänsen C und D ein weit stärkerer Eiweißzerfall im Vergleich zu den Gänsen A und B nachgewiesen werden; von den Enten ist umgekehrt der Eiweißzerfall an demjenigen Tiere größer, das den geringeren Energieumsatz aufweist. Für diesen Unterschied finden wir demnach keine Erklärung.

Beteiligung des Eiweißes am Energieumsatz. Berechnen wir in den Enten- und allen Gänseversuchen das Verhältnis, in dem sich das Eiweiß am Energieumsatz beteiligt, so ergibt sich folgendes.

Auf chemische Energie aus zersetztem Eiweiß entfällt von der gesamten Wärmeproduktion:

Versuchstier	Versuchs-reihe	Versuchs-temperatur °	%
Ente A	II	22	8,3
„ B	IV	22	13,2
Gans A	V	16	12,8
„ B	VI	16	9,1
„ A	I	27	8,1
„ B	II	27	8,3
„ C	III	27	13,1
„ D	IV	27	14,7

Diese Berechnung ist der Einfachheit halber so ausgeführt, daß in allen Versuchen für das Eiweiß der physiologische Nutzeffekt von 4,1 kg-Cal. pro 1 g eingesetzt ist. Man sieht, daß die Beteiligung des Eiweißes bei den verschiedenen Enten und Gänsen eine recht verschiedene ist; im allgemeinen

sind jedoch die Werte ähnlich denen, die auch an Hunden zur Beobachtung kommen.

Versuche an gefütterten Enten.

Die Enten A und B wurden 3 Tage lang mit je 50 g Mais vorgefüttert, von dem hinreichende, auf ihren N-, C- und Energiegehalt analysierte Portionen vorher abgewogen wurden; dann wurden die calorimetrischen Versuche begonnen, wobei die Tiere 50 g Mais und 250 g Wasser jedesmal knapp vor Versuchsbeginn verzehrten.

Tabelle VI.

Allgemeine Daten der Versuche.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Datum des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs	Ventilation, cbm	Mittlere Temp. d. Tierraumes °	Körpertemperatur, ° am Beginn des Vers.	Körpertemperatur, ° am Ende des Vers.	Bruttokörpergewicht [1]) am Beginn d. Vers. g	Bruttokörpergewicht [1]) am Ende des Vers. g	Mit der Ventilation abgeführt CO_2 g	Mit der Ventilation abgeführt H_2O g	O_2-Verbrauch (berechnet)	RQ
V.	12	16.—17. VI. 1913	4^{40} Nm.	18h 20′	25	21,5	41,0	41,6	1134,5	1069,0	41,2	49,2	24,9	1,200
Tier A	13	17.—18. VI. 1913	5^{00} „	18h 00′	32	22,8	40,6	40,6	1185,7	1139,3	39,2	33,2	25,0	1,140
VI.	14	18.—19. VI. 1913	6^{00} „	16h 33′	29	23,1	40,3	40,0	964,5	924,5	26,6	31,3	17,9	1,081
Tier B	15	19.—20. VI. 1913	5^{27} „	17h 12′	30	23,3	40,8	39,4	984,7	932,7	33,9	38,3	20,2	1,376
	16	23.—24. VI. 1913	1^{58} „	18h 37′	34	23,5	40,4	40,7	1020,9	966,3	38,5	39,3	23,1	1,217

Tabelle VII.

H_2O-, CO_2-Abgabe und O_2-Verbrauch, auf 1 kg und auf 1 qm reduziert.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Nettokörpergewicht [2]) am Beginn des Versuchs kg	Pro 24 Stunden: Mit d. Ventilationsluft abgeführt CO_2 g	Pro 24 Stunden: Mit d. Ventilationsluft abgeführt H_2O g	Pro 24 Stunden: O_2-Verbrauch g	Pro 24 Std. u. 1 kg Körpergewicht: Mit d. Ventilationsluft abgeführt CO_2 g	Pro 24 Std. u. 1 kg Körpergewicht: Mit d. Ventilationsluft abgeführt H_2O g	Pro 24 Std. u. 1 kg Körpergewicht: O_2-Verbrauch g	Pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläche: Mit d. Ventilationsluft abgeführt CO_2 g	Pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläche: Mit d. Ventilationsluft abgeführt H_2O g	Pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläche: O_2-Verbrauch g
V.	12	941,5	53,9	64,4	32,6	57,4	68,6	34,7	537	642	325
Tier A	13	992,7	52,3	44,3	33,3	52,7	44,6	33,6	503	426	299
VI	14	821,5	38,5	45,4	25,9	46,9	55,3	31,6	420	495	285
Tier	15	841,7	47,6	53,4	28,2	56,6	63,5	33,5	511	574	303
B	16	877,9	49,6	50,2	29,8	56,5	57,2	33,9	518	524	311

[1]) Mitsamt dem Harn- und Kotbeutel und deren Inhalt.

[2]) Ohne Harn- und Kotbeutel.

Tabelle VIII.

24stündiger N-, C-Umsatz, Berechnung der Wärmeproduktion aus den Zersetzungen.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	N					Eiweißbilanz	C						Fettbilanz	Chemische Energie						Wärmeproduktion		
		Einfuhr	Ausfuhr			Bilanz		Einfuhr	Ausfuhr				Bilanz		i. eingeführten Mais (a)	i. deponiert. Eiweiß (b)	i. deponierten Fett (c)	im Kot (d)	im Harn (e)	b+c+d+e	pro 24 Std. a−(b+c+d+e)	pro 24 Std. u. 1 kg Körpergewicht	pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläche
			im Harn	im Kot	zusammen				im Harn	im Kot	i. d. abgegebenen CO_2	zusammen											
		g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.
V.	12	0.78	0,66	0,11	0,77	+0,01	+0.06	21,23	0,64	2,72	14,71	18.07	+3,16	+4,13	195,1	0,3	38,8	27,1	51	71,3	123,8	131,5	1233
	13	0,78	0 66	0,11	0,77	+0.01	+0.06	21,23	0,64	2,72	14,26	17,62	+3,61	+4,65	195,1	0,3	46,7	27.1	51	79,2	115,9	116,8	1114
VI.	14	[illegible],78	0,64	0,13	0,77	+0,01	+0,06	21,23	0,64	3,00	10,[illegible]1	14,15	+7,08	+9,16	195,1	0,3	86,1	26,1	49	117,4	77,7	94,6	847
	15	0,78	0,[illegible]4	0,13	0,77	+0,01	+0,06	21,23	0,64	3,00	12,99	16,63	+4,60	+5,96	195,1	0,3	55,8	26,1	49	87,1	108,0	128,3	1159
	16	0,78	0,64	0,13	0,77	+0,01	+0,06	21,23	0,64	3,00	13,53	17,17	+4,06	+5,24	195,1	0,3	49,2	26,1	49	80,5	114,6	130,5	1196

Harn und Kot wurde auch hier getrennt verarbeitet, allerdings an der während der ganzen Dauer einer Versuchsreihe gesammelten Menge.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen VI bis IX zusammengestellt. Tabelle VI enthält die allgemeinen Daten der Versuche, Tabelle VII die auf 1 kg Körpergewicht und 1 qm Körperoberfläche reduzierten Werte des 24stündigen Gaswechsels, Tabelle VIII die Daten des N-, C-Umsatzes sowie die Berechnung der Wärmeproduktion aus den Zersetzungen (indirekte Calorimetrie), Tabelle IX die Ergebnisse der direkten calorimetrischen Bestimmungen.

Tabelle IX.

Direkte Calorimetrie.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Nettokörpergew.[1]) am Beginne des Versuchs	Wärmeabgabe			Gesamte Wärmeabgabe (A)	Die Gewichts- und Temperaturveränderung des Tieres erfordert eine Korrektion von (B)	Wärmeproduktion (A — B)	Wärmeproduktion	
			an das Calorimeter abgegeben	mit der Ventilationsluft abgeführt	Verdampfungswärme des Wasserdampfes in der Ventilationsluft				pro 24 Std. u. 1 kg Körpergewicht	pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläche
		g	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal	kg-Cal.	kg-Cal.
V.	12	941,5	74,9	14,9	38,1	127,9	— 1,6	126,3	134,2	1257
	13	992,7	79,1	24,6	26,2	129,9	— 1,5	128,3	129,3	1234
IV.	14	821,5	53,4	18,0	26,9	98,3	— 1,5	96,8	118,6	1055
	15	841,7	63,5	22,6	31,6	117,7	— 2,7	115,0	136,6	1234
	16	877,9	71,0	20,7	29,7	121,4	— 1,5	120,4	137,1	1258

Gewichtsveränderung. Entsprechend den bedeutenden Futtermengen, die die Enten erhielten, legten beide Tiere Fett an; Ente B, die relativ mehr Mais erhielt, nahm jedoch an Gewicht weniger als Ente A zu.

Die Körpertemperatur der Tiere war nicht wesentlich von der der Hungertiere verschieden; sie bewegte sich zwischen 39,4 und 41,6 °.

Die Wasserdampfabgabe, CO_2-Produktion und der O_2-Verbrauch der gefütterten Enten ist einerseits mit denen der Hungertiere verglichen worden, andererseits mit den entsprechenden Daten der bei 16° gefütterten Gans A. Der Gaswechsel betrug pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche in g:

[1]) Ohne Harn- und Kotbeutel.

Versuchstier		Versuchsreihe	Versuchstemperatur 0	H_2O	CO_2	O_2
Ente A	hungernd	II	22	250	276	253
	gefüttert	V	22	534	520	312
„ B	hungernd	IV	22	-224	240	200
	gefüttert	VI	22	-531	483	300
Gans A	hungernd	V	16	286	231	217
	gefüttert	XI	16	413	477	287

Es ist zu sehen, daß die Wasserdampfabgabe der gefütterten Enten um 114 bzw. 136, die CO_2-Produktion um 88 bzw. 100, der O_2-Verbrauch um 23 bzw. 50% höher war als an den Hungertieren. Da an der gefütterten Gans die Steigerung 44 bzw. 107 bzw. 32% betrug, läßt sich konstatieren, daß die Übereinstimmung mit den Entenversuchen eine gute ist betreffs der CO_2-Produktion, eine annähernd gute im O_2-Verbrauch.

Der respiratorische Quotient zeigt ein ähnliches Verhalten wie in den Gänseversuchen. Die Enten hatten, wie aus Tabelle VII ersichtlich, in allen Versuchen Fett angelegt, das zu einem offenbar großen Anteil aus Kohlenhydrat entstanden ist. Dementsprechend hatten die RQ-en die hohen Werte 1,081 bis 1,376.

Der Quotient Cal.: N im Harn konnte, da die Excremente auch hier getrennt gesammelt wurden, berechnet werden; er betrug an beiden Enten in guter Übereinstimmung im Durchschnitt sämtlicher Versuche 7,7 bzw. 7,6, hatte also Werte, die sich von den an den Hungertieren beobachteten Werten nicht wesentlich unterscheiden.

Der Energieumsatz wurde auch an den gefütterten Tieren sowohl aus den Zersetzungen berechnet, wie auch direkt bestimmt.

Waren schon die an Hungertieren erhaltenen Werte recht verschieden ausgefallen, je nachdem sie durch Berechnung oder durch direkte Bestimmung erhalten wurden, konnte eine gute Übereinstimmung an den gefütterten Tieren, wo einer genauen Berechnung der Wärmeproduktion erheblichere Fehlerquellen im Wege stehen, noch weit weniger erwartet werden. Nimmt man jedoch die Mittelwerte aus je einer Versuchsreihe, sind die Ergebnisse insofern eben noch annehmbar, als sie bloß um

etwa 6 bzw. 11 % voneinander differieren. Es betrug nämlich die Wärmeproduktion pro 24 Stunden in kg-Cal.:

Versuchstier	Versuchsreihe	berechnet	bestimmt
Ente A	V	120	127
„ B	VI	100	111

In nachfolgenden Betrachtungen wollen wir bloß mit den durch direkte Calorimetrie erhaltenen und auf 1 qm der Körperoberfläche reduzierten Werten rechnen und den Energieumsatz der gefütterten Enten sowohl mit dem der Hungertiere als auch mit dem der gefütterten Gänse vergleichen.

Versuchstier		Versuchsreihe	Versuchs-temperatur °	kg-Cal. pro 1 qm
Ente A	hungernd	II	22	935
	gefüttert	V	22	1246
Ente B	hungernd	IV	22	735
	gefüttert	VI	22	1182
Gans A	hungernd	V	16	793
	gefüttert	XI	16	1168

Es hatte also der Energieumsatz der gefütterten Ente A um 33, der der Ente B um 61 % zugenommen, was in gutem Einklange zur Veränderung des O_2-Verbrauches steht, der um 23 bzw. 50 % zugenommen hatte. Der bedeutende Unterschied im Verhalten beider Enten läßt sich darauf zurückführen, daß Ente A das Doppelte, Ente B aber beinahe das Dreifache seines Hungerbedarfes in Mais eingeführt erhielt.

Diese Versuche scheinen namentlich im Vereine mit den an gefütterten Gänsen ausgeführten geeignet zu sein, den quantitativen Zusammenhang zwischen der in der Nahrung eingeführten chemischen Energie und der Zunahme des Energieumsatzes zu prüfen.

In nachstehender Tabelle X haben wir die auf die Einheit der Körperoberfläche bezogene, im Mais eingeführte Energiemenge mit dem ebenso reduzierten Hungerbedarf der Tiere und dem relativen Überschuß der Einfuhr mit der relativen Zunahme der Wärmeproduktion verglichen. Da es einen evidenten Unterschied ausmacht, ob die ganze im Mais eingeführte Energiemenge in Berechnung gezogen wird oder nur derjenige Anteil,

der nach Abzug der in den Entleerungen enthaltenen Energiemenge übrig bleibt — also die eingeführte nutzbare Energie —, haben wir die Berechnung auch mit letzteren Werten ausgeführt. Hierbei gingen wir von der an einer anderen Stelle[1]) erörterten Tatsache aus, daß an Enten sowohl als auch an Gänsen ungefähr 85 % des in gewissen Mengen eingeführten Maisfutters ausgenutzt werden. Leider konnten von den an Gänsen ausgeführten Versuchsreihen diejenigen, in denen bloß 50 g Mais verfüttert wurden, hier darum nicht herangezogen werden, weil bei dem relativ geringen Überschuß über den Hungerbedarf die Ausschläge, mit denen hätte gerechnet werden müssen, viel zu geringe waren, daher ganz unzuverlässige Resultate ergeben hätten.

Tabelle X.

Versuchstier	Versuchsreihe	Versuchstemperatur	Hungerbedarf	Auf 1 qm Körperoberfläche entfallen		Der Hungerbedarf wird überschritten		Wärmeproduktion pro 1 qm Körperoberfläche	Zunahme der Wärmeproduktion gegen den Hungerzustand	D. Wärmeproduktion wird gesteigert um x kg-Cal. durch ein Überschuß v. 100 kg-Cal. an	
				eingeführte Energie	eingeführte nutzbare Energie	durch eingeführte Energie	durch eingeführte nutzbare Energie			eingeführter Energie	eingeführter nutzbarer Energie
		°	kg-Cal.	kg-Cal.	kg-Cal.	%	%	kg-Cal.	%		
Ente A	V	22	935	1909	1621	104	73	1246	33	32	45
„ B	VI	22	735	2085	1772	184	141	1182	61	33	43
Gans A	XI	16	793	2092	1778	164	124	1168	47	29	38
„ A	IX	27	715	1674	1422	134	99	1136	59	44	59
„ B	X	27	682	1805	1534	165	125	1043	53	32	42

Aus den Daten der Tabelle X ist ersichtlich, daß die Zunahme der Wärmeproduktion wenigstens unter den in diesen Versuchen gegebenen Bedingungen in einem überraschend konstanten Verhältnis zu dem Überschuß an eingeführter Energie steht, sei es, daß mit diesem selbst oder mit der nutzbaren Energie allein gerechnet wird. Es ist bloß die an der Gans A ausgeführte Versuchsreihe IX, in der der betreffende Wert aus der Reihe der übrigen springt. Aber auch diese Divergenz kann teilweise darin begründet sein, daß Versuchsreihe IX bei 27°, also jedenfalls in der Nähe der kri-

[1]) Diese Zeitschr. 88, 291, 1918.

tischen Temperaturgrenze, ausgeführt wurde; bei dieser ist aber die Wärmeproduktion relativ größer als bei niedrigeren Temperaturen, bei denen im Sinne des Rubnerschen Kompensationsgesetzes die durch die eingeführte Nahrung bewirkte Steigerung der Wärmeproduktion nicht zum vollen Ausdruck kommt. (Allerdings hätte sich dann auch in Versuchsreihe X derselbe höhere Wert ergeben müssen.) Im Einklang mit dieser Annahme steht auch der in Versuch XI gefundene kleinere Wert, indem in der kälteren Umgebung, 16°, die erwähnte Kompensation eine größere, daher die Zunahme der Wärmeproduktion eine geringere ist.

Natürlich ist die Anzahl der hier berechneten Versuche eine viel zu geringe, um aus diesen definitive Schlüsse ziehen zu können. Die relativ gute Übereinstimmung in den 5 Versuchsreihen läßt aber zum mindesten so viel schließen, daß unter den genannten Versuchsbedingungen zirka 34 bzw. 45 % des im Mais eingeführten Energieüberschusses bzw. des Überschusses an nutzbarer Energie zur Steigerung der Wärmeproduktion verwendet werden. Wird die Berechnung mit dem Überschuß an nutzbarer Energie ausgeführt, so erhält man rein die Wirkung, die von Rubner als spezifisch-dynamische bezeichnet wird (sofern diese Bezeichnung nicht bloß auf reines Eiweiß, Fett oder Kohlenhydrat angewendet werden darf); die Berechnung mit der gesamten eingeführten chemischen Energie würde hingegen alles in sich begreifen, was Tangl als Ernährungsarbeit, und zum großen Teil das, was Zuntz als Verdauungsarbeit bezeichnet.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich in folgendem zusammenfassen:

1. Der Stoffwechsel und Energieumsatz der Enten gleicht dem der Gänse.

2. Der respiratorische Quotient hungernder Enten wurde etwas höher gefunden, als an Säugetieren und an Gänsen beschrieben ist; es rührt dies offenbar teilweise von Versuchsfehlern her.

3. Der respiratorische Quotient von Enten, die mit viel Mais gefüttert werden, hat ähnliche hohe Werte (über 1), wie sie an Gänsen gefunden wurden.

4. Der Quotient Cal.:N im Harn hungernder und

mit Mais gefütterter Enten hat einen Wert von etwa 7 bis 9.

5. Der Hungerumsatz zweier hungernder Enten wurde zu 935 bzw. 735 kg-Cal. pro 24 Stunden und 1 qm der Körperoberfläche gefunden. Solche individuelle Unterschiede kommen auch an Gänsen vor.

6. An hungernden Enten und Gänsen ist das Eiweiß zu etwa 11 % am Energieumsatz beteiligt.

7. Der Energieumsatz von Enten, die wesentlich mehr, als ihrem Körperumsatz entspricht, in Mais eingeführt erhalten, ist ansehnlich gesteigert, ebenso wie dies an Gänsen der Fall ist.

8. Die Steigerung des Energieumsatzes steht in einem annähernd konstanten Verhältnis zum Überschuß an eingeführter chemischer Energie; dasselbe ist auch an gefütterten Gänsen der Fall.

Über das Verhalten einiger neutraler Saponinsubstanzen zu isolierten Körperzellen.

Von

Albert Schreuder.

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiol. Chemie zu Rostock.)

(Eingegangen am 14. März 1918.)

Die Anstellung der in nachstehender Arbeit enthaltenen Versuche wurde durch den Ausbruch des Krieges jäh abgebrochen. Die noch fehlende Fortsetzung nach verschiedenen Richtungen hin und namentlich nach der chemischen Seite behält sich unser Institut vor.

Der Vorgang der Verankerung der Saponine in gewissen Körperzellen ist nur ein Fall aus der großen Reihe der in den Körperzellen sich verankernden Arzneisubstanzen und Gifte. Nach der von P. Ehrlich ausgebauten Anschauung müssen alle Substanzen, die auf ein Organ wirken sollen, sich erst dank ihrer haptophoren Eigenschaften an den Zellen dieses Organes

verankern. Erst dann können sie vermittels ihrer toxophoren Eigenschaften auf diese Zellen wirken. Als Beispiel der Verankerung solcher Stoffe nenne ich die des Äthers und Chloroforms, und zwar erst in den Blutkörperchen, die dadurch sogar hämolysiert werden können. Alsdann erfolgt bei diesen Substanzen, falls sie nur in kleinen Mengen zugeführt sind, eine Verankerung in den Zellen des Gehirns und Rückenmarks, und zwar dadurch, daß sie sich in den Lipoiden dieser Zellen lösen. Von Alkaloiden nenne ich z. B. das Morphin, das sich ebenfalls in den Zellen des Gehirns durch seine Lipoidlöslichkeit verankert.

Nun brauchen aber nicht alle Stoffe, die auf gewisse Organzellen wirken sollen, sich in diesen zu lösen; sie können auch mit diesen Zellen, resp. mit einzelnen chemischen Bestandteilen der Zellen oder der Zellmembran wasser- und fettunlösliche Verbindungen bilden. In diese Gruppe gehören z. B. einige mikrobische Toxine, und von pflanzlichen Stoffen die sogenannten Hämagglutinine, d. h. Abrin, Ricin, Crotin und die große Reihe der Phasine. Ich verweise betreffs dieser Stoffe auf Kobert, Beiträge zur Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine, Teil I und II, Berlin 1913, Verlag von Paul Parey. Die Analogie der Saponinsubstanzen mit den Hämagglutininen ist schon oft hervorgehoben worden. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß sowohl Saponine wie Hämagglutinine mit sehr vielen Organzellen sich verbinden können, z. B. mit denen des Gehirns, der Leber, der Niere usw. Beide bilden dabei unlösliche Verbindungen. Für die Saponine dies nachzuweisen, ist Aufgabe der nachstehenden Arbeit.

1. Versuche mit Sapindus-Saponin an Blut, an Gehirnzellen und weißen Blutkörperchen.

Die Firma Hoffmann-La Roche in der Schweiz stellt große Mengen eines schneeweißen Pulvers aus Sapindusnüssen, die von Sapindus Mukorossi zu stammen scheinen, dar, welches als ziemlich reines Sapindus-Saponin angesehen werden kann. Dieses diente zur ersten Reihe meiner Versuche. Natürlich mußte ich zunächst die Grenze der hämolytischen Kraft dieses Präparates feststellen. Ich kam dabei zu folgendem Ergebnis: Bei $2^0/_0$igem Rinderblut tritt die Wirkung unseres Sa-

pindus-Saponins auf die roten Blutkörperchen, d. h. die völlige Auslösung des Blutfarbstoffs aus den Stromata, also die Hämolyse, gerade noch bei einer Verdünnung von 1:30000 ein. Ich werde dies noch oft zu erwähnende Saponin kurz als Saponin „Roche“ bezeichnen.

Bei den folgenden Versuchen benutzte ich stets die 1%ige Lösung des Saponins „Roche“ in physiologischer Kochsalzlösung und ließ im Mindestfalle 1 ccm davon auf 10 ccm der zu untersuchenden Substanzen wirken.

Ich erforschte zunächst die Wirkung des vorliegenden Saponins auf ausgewaschene Hirnzellen vom Kaninchen. Zu diesem Zwecke werden die möglichst blutfrei gewonnenen Gehirne zweier Kaninchen aufs feinste mittels 0,9%iger Lösung von NaCl zu einer Emulsion angerieben und die gröberen Partikelchen mittels Durchgießen durch engmaschige Gaze entfernt. So bekommen wir eine Flüssigkeit, in der das Verhältnis von Hirn und NaCl-Lösung unbekannt ist, und die daher nur nach dem Aussehen beurteilt werden kann. Sie wird so lange verdünnt, bis sie gerade wie Milch aussieht. Eine zentrifugierte und dann filtrierte Probe dieser Flüssigkeit gibt deutliche Eiweißreaktionen, z. B. nach Esbach, Heller und nach der Kochprobe. Der Filterrückstand besteht aus Zellbrei. Von Hämoglobin ist nichts vorhanden.

Versuch 1.

Ich fülle in 10 Reagensgläschen je 5 ccm meiner milchartigen Flüssigkeit von Hirnzellensuspension des Kaninchens und versetze sie teils mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung (Glas 1, 3, 5, 7, 9), teils mit je 5 ccm der erwähnten 1%igen Saponinlösung (2, 4, 6, 8, 10), dann schüttle ich, was ich auch bei allen ferneren Versuchen genau beobachte, die Gläschen gut durch.

Nach 24 Stunden: In den Reagensgläsern mit Hirnzellen + Saponinlösung (2, 4, 6, 8, 10) ist der Bodensatz fast um das Doppelte voluminöser als der in den Gläsern mit Hirnzellen + NaCl-Lösung (1, 3, 5, 7, 9). Das Filtrat beider Glasreihen enthält überall gleich viel Eiweiß, da Pikrin-Zitronensäure überall einen gleich großen Niederschlag liefert.

Ergebnis: 50 mg Saponin der Seifennüsse in Form einer 1%igen Lösung zu Hirnzellenbrei zugesetzt, hatte folgende Wirkung. Eine stärkere Auslaugung von Eiweiß aus den Hirnzellen, als Kochsalz sie bewirkt, hat das Saponin auch nicht hervorgebracht. Umgekehrt wurde durch diesen Zusatz

das Volumen des sich allmählich bildenden Niederschlages der gewaschenen frischen Gehirnzellen vom Kaninchen um das Doppelte vermehrt. Mikroskopisch zeigen die Zelltrümmer beider Gläschenarten keinen Unterschied.

Versuch 2.

Ich fülle in 2 Gläsern je 5 ccm einer Mischung von physiologischer Kochsalzlösung und Leukocyten, aus der Thymus eines Kalbes gewonnen, und setze dem einen Glase 5 ccm phys. NaCl-Lösung, dem anderen 5 ccm der 1%igen Sapindus-Saponinlösung hinzu und schüttle gut durch.

Nach 24 Stunden: Auch hier ist der Bodensatz im Glas mit Leukocyten + Saponinlösung fast um das Doppelte voluminöser als im Glase mit Leukocyten + NaCl.

Ergebnis: Auch Thymusleukocyten des Kalbes werden nach Zusatz von Sapindus-Saponin an Volumen nicht geringer, sondern voluminöser.

Versuch 3.

Eiter aus einem tuberkulösen Absceß aus der chirurgischen Klinik wird mit phys. Kochsalzlösung mehrmals gewaschen, um die mucinöse Flüssigkeit von den Körperchen zu trennen. Dann werden in 2 Gläschen je 5 ccm Körperchensuspension getan. Zu Nr. 1 tue ich 10 ccm phys. NaCl-Lösung, zu Nr. 2 10 ccm 1%ige Saponinlösung „Roche".

Nach 24 Stunden befindet sich in Glas Nr. 1 ein 1 cm höherer weißer Bodensatz; in Glas Nr. 2 ist seine Höhe doppelt so groß, nämlich 2 cm. Die Farbe ist wie in 1 weiß.

Ergebnis: Also auch bei tuberkulösem Eiter ist der Bodensatz unter der Einwirkung des Saponins der Seifennüsse viel größer als der der Kontrolle.

Diese 3 Versuche stimmen also trotz des verschiedenen Materials im Resultat darin überein, daß der Bodensatz vermehrt wird. Ob die Zelltrümmer vergrößert oder gelöste Eiweißstoffe unlöslich gemacht werden, bleibt unentschieden; das Mikroskop gibt keine klare Entscheidung.

Diese schon rein äußerlich in so starkem Maße zum Ausdruck kommende Wirkung von Sapindus-Saponin auf Körperzellen beobachtete ich fast durchweg bei meinen Versuchen, wie wir noch sehen werden.

Versuch 4.

Völlig blutfreie, sehr fein suspendierte Gehirnzellen vom Kaninchen werden bis zur Milchähnlichkeit mit phys. NaCl-Lösung verdünnt und in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I enthält 5 ccm Brei + 15 ccm phys. NaCl.
" II " 5 " " + 15 " der 1 %igen Lösung von Sapindus-Saponin „Roche".

Ergebnis: Nach sechs Stunden ist der Niederschlag in dem Saponin enthaltenden Glase etwa dreimal so hoch als der im Kontrollglas. Auch nach 3tägigem, ruhigen Stehen ist dieser Unterschied, wenn er auch etwas geringer geworden ist, noch sehr deutlich wahrnehmbar.

Es muß also entweder eine Fällung des aus den Zellen ausgezogenen gelösten Cholesterins erfolgt sein oder es muß mit den vom Saponin bespülten Hirnzellen eine physikalische Änderung im Sinne einer Quellung vor sich gegangen sein, oder es müssen sich Saponinmoleküle an das Zellprotoplasma angelagert haben und dadurch deren Volumen vermehrt oder das Zusammenballungsvermögen im Sinne einer Agglutination begünstigt haben. Wir wissen seit den Versuchen von Ransom, daß die Saponine mit den Cholesterinen der Körperzellen chemische Verbindungen bilden, die in Wasser unlöslich sind. Wir wissen ferner, daß die Neutralsalze der höheren Fettsäuren hämolytisch wirken, daß aber trotzdem die agglutinogenen Wirkungen der Mikroben gerade auf diesen Fettsäuren beruhen. Nach E. Bauer[1]) lassen sich sogar mittels des Serum-Petrolätherextraktes agglutininreicher Tiere die Agglutinine auf Kaninchen übertragen. Genug, an sich hämolytisch wirkende Stoffe können auch im Sinne von Agglutininen wirken. Um nun meine Vermutung, daß diese Annahme im vorliegenden Falle auch für die Saponine gilt, auf ihre Richtigkeit zu prüfen, mußte ich versuchen, die Verankerung unseres Saponins in den Körperzellen auf irgendeine Methode zu lösen. Bei der Wahl dieser Methode bin ich dem Vorgange von George Reid[2]) gefolgt. Ich ließ mich dabei von dem schon oben erwähnten Gedanken an die Ähnlichkeit zwischen den Agglutininen und den Saponinen leiten, d. h. ich entschloß mich, zu versuchen, durch Einwirkung von Säuren, oder falls das keinen Erfolg hat, von Alkali die Saponine vom Niederschlag wieder frei zu machen und sie dann auszuziehen. Zum Nachweis der frei-

[1]) E. Bauer, diese Zeitschr. 83, 120, 1917.

[2]) Beiträge zur Kenntnis der chemischen Natur und des biologischen Verhaltens des Ricins. Landwirtschaftl. Versuchsstationen 82, 1913.

gemachten Saponinsubstanzen bediente ich mich der oben besprochenen Saponinhämolyse von Blutkörperchen.

Fortsetzung des Versuches 4.

Die Zellen des saponinhaltigen Gläschens werden nach Abhebern der darüber stehenden, saponinhaltigen, mäßig klaren Flüssigkeit viele Male mit phys. NaCl-Lösung aufgeschüttelt und immer nach dem Absetzen durch Abhebern von der Flüssigkeit wieder befreit. Zuletzt wird der Zellbrei auf dem Filter so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine Saponinreaktion mehr gibt. Nun wird der Zellbrei mit 2 Tropfen Salzsäure und 5 ccm NaCl verrieben und das Filtrat mit Soda neutralisiert und mit 5 ccm $2^0/_0$igem Meerschweinchenblut versetzt. Es erfolgt selbst nach 26 Stunden keine Hämolyse.

Es ist also kein durch Salzsäure abspaltbares Saponin vorhanden. Dies ist ein tiefgreifender Unterschied gegenüber der Gruppe der Agglutinine (Ricin, Phasin der Bohnen, Robin usw.), die durch Salzsäure leicht frei gemacht werden können.

Die Salzsäure wird dann durch weiteres Waschen mit phys. NaCl den Zellen noch vollständig entzogen und der Zellbrei mit 3 Tropfen Natriumcarbonatlösung versetzt und mit 5 ccm phys. NaCl ausgezogen, nachdem das Alkali einige Zeit eingewirkt hat. Das Filtrat wird mit HCl neutralisiert und mit 5 ccm $2^0/_0$igem Meerschweinchenblut versetzt. Dabei erfolgt sofort Hämolyse. 5 weitere Auszüge des Filterrückstandes mit je 5 ccm phys. NaCl-Lösung geben nochmals schnelle Hämolyse von Meerschweinchenblut.

Ergebnis: Gehirnzellen vom Kaninchen verankern eine gewisse Menge des an sich in neutraler, in schwachsaurer und schwachalkalischer Flüssigkeit gleich gut löslichen Sapindus-Saponins „Roche" so fest, daß es durch Waschen mit physiologischer NaCl-Lösung ihnen nicht entzogen werden kann. Diese Verankerung ist mit einer sehr deutlichen Volumvermehrung verbunden. Die bei den Agglutininen anwendbare Zerlegung der Verbindung von Zelle und Gift durch Salzsäure gelingt hier nicht, da das Saponin sich offenbar nicht analog den Agglutininen verankert. Wohl aber wird bei diesem Waschen mit HCl-haltiger NaCl-Lösung der letzte Rest etwa noch vorhandenen nicht verankerten Saponins natürlich ausgewaschen. Behandeln der Zellen nach der sauren Auswaschung mit NaCl-Lösung + Soda macht das Saponin dagegen wieder frei. Mit dem so gewonnenen und dann neutralisierten Filtrate kann man typische rasche Saponinwirkung auf rote Blutkörperchen hervorrufen, und zwar

nicht nur mit dem ersten Filtrate, sondern auch noch mit den nachfolgenden. Es sind also nicht nur Spuren, sondern merkbare Mengen von Saponin gebunden gewesen und jetzt in Lösung gegangen.

In meinen nächsten Versuchen Nr. 5 bis 10 standen mir Hirnzellen vom Menschen zur Verfügung, die jedoch 1 bis 3 Wochen unter 3,6 %igem Formalin gehalten wurden, um sie vor dem Verderben zu schützen. Diese Konservierung und Härtung der Hirnzellen wirkte nicht nur nicht störend bei den Versuchen, sondern brachte mir in bezug auf die technische Seite, d. h. in bezug auf das Filtrieren der Zellbreie, ganz erhebliche Erleichterung. Gerade an der Schwierigkeit, frische Zellen auf dem Filter zu waschen und dann auszuziehen, scheiterten, wie ich jetzt schon erwähnen will, viele Versuche.

Bei den alkalischen Auszügen von den mit Formalin gehärteten Zellen muß man stets mehr Alkali anwenden als bei denen von frischen Zellen, da sich aus dem Formalin eine Säure (Ameisensäure) bildet, eine Tatsache, die neuerdings auch von anderer Seite beobachtet und eben auf das Formalin zurückgeführt wird. Ich wurde darauf besonders aufmerksam, als ich bei den Auswaschungen in den Versuchen quantitativ genauer arbeitete als bei Versuch 6 und Normalsäure und Normallauge in abgemessenen Mengen anwandte.

Versuch 5.

Hirnzellen vom Mensch, gleich nach der Sektion durch exaktes Waschen mit hypotonischer Kochsalzlösung blutfrei gemacht, dann fein suspendiert 4 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten. Durch sorgfältiges Waschen mit phys. NaCl-Lösung entfernte ich sodann das Formalin und setzte 3 Gläschen mit dem zu Milchkonsistenz verdünntem Hirnbrei an.

Nr. I u. II enthalten: 5 ccm Hirnbrei + 10 ccm phys. NaCl-Lösung + 3 ccm der 1 %igen Lösung von Saponinlösung „Roche“.

Nr. III enthält statt Saponinlösung nur NaCl-Lösung.

Nach 12stündigem Stehen ist auch hier der Bodensatz in den beiden Saponin enthaltenden Gläschen Nr. I u. II bedeutend voluminöser als der im Kontrollgläschen I, das nur NaCl enthält, obwohl die 3 Gläschen vor dem Zusetzen von Saponin in II u. III genau gleich voluminösen Bodensatz zeigten. Ich hebere nun die überstehenden Flüssigkeiten der saponinhaltigen Gläschen ab und lasse sie auf frische serumfreie Blutkörperchen vom Kaninchen wirken, um zu sehen, ob die Flüssigkeit saponinhaltig ist. Es erfolgt binnen 2 Minuten

totale Hämolyse. Ich habe also einen Überschuß von Saponin angewandt. Da auch im Versuch 8 2 ccm Saponin längst nicht von den Hirnzellen aufgenommen werden, so werde ich bei den nächsten Versuchen nur 1 ccm Saponin verwenden. Die beiden saponinhaltigen Bodensätze bringe ich auf ein Filter und wasche sie so lange, bis das Filtrat auf rote Blutkörperchen vom Kaninchen nicht mehr hämolytisch wirkt. Ich ordne meinen Versuch nun so an, daß ich erst den sauren Auszug vornehme. Ich setze zu dem Filterrückstand 10 ccm NaCl + 3 ccm $^{n}/_{100}$-HCl. Das Filtrat wirkt schwach sauer auf blaues Lackmuspapier. Ich neutralisiere es mit $^{n}/_{100}$-NaOH und lasse das Filtrat auf rote Blutkörperchen wirken. Es tritt keine Hämolyse auf. Den noch sauer reagierenden Filterrückstand versetze ich zunächst so lange mit $^{n}/_{100}$-NaOH, bis das Filtrat neutral ist. Um ein alkalisches Filtrat zu bekommen, muß ich im ganzen noch $7^{1}/_{2}$ ccm $^{n}/_{100}$-NaOH hinzusetzen zum Filterrückstand. Ich mache also hier die schon erwähnte Beobachtung, daß ich, um ein alkalisches Filtrat zu erhalten, verhältnismäßig viel Alkali brauche.

Das alkalische, dann neutralisierte Filtrat unseres Filterrückstandes wirkt auf rote Kaninchenblutkörperchen sofort hämolytisch. Mit dem Kontrollgläschen verfahre ich ebenso, erziele natürlich keine Hämolyse.

Ergebnis: Auch bei durch Formalin gehärteten Hirnzellen ist saponinhaltiger Bodensatz voluminöser als der saponinfreie. Das verankerte Saponin ist nicht durch HCl, wohl aber durch Alkali den Zellen zu entziehen.

Versuch 6.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 8 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagensgläschen mit je 5 ccm dieses Gehirnbreies auf.

Zu Glas I u. II setze ich 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ 9 „ „ „ + 1 ccm der 1 %igen Saponinlösung.

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen.

Die überstehenden Flüssigkeiten von III, IV, V wirken auf frische rote Rinderblutkörperchen nicht hämolytisch, sind also nicht saponinhaltig. Die ganze Menge des Saponins ist vielmehr in den Zellen verankert.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze von Glas III, IV, V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 1 ccm H $^{n}/_{100}$-HCl hinzu. Das Filtrat reagiert sauer; neutralisiert mit 1 ccm $^{n}/_{100}$-NaOH wirkt es auf frisches Rinderblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 10 ccm $^{n}/_{100}$-NaOH. Das schwach alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 5 Tropfen $^{n}/_{100}$-HCl und mache

es durch 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung isotonisch. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch. Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 5 ließ sich auch hier den gehärteten Gehirnzellen nicht durch Säure, wohl aber durch Alkali Saponin entziehen.

Bei der schwachen Konzentration unserer Säure und Base haben wir es bei den Filtraten mit großen Mengen sehr dünner Flüssigkeit zu tun. Damit sie dem Blute isotonisch sind, setze ich ihnen in allen Versuchen von jetzt ab die gerade richtige Menge Chlornatrium zu.

Versuch 7.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 10 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagensgläschen mit je 5 ccm dieses Zellbreies auf.

Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ „ + 1 ccm Saponinlösung „Roche".

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz des saponinhaltigen Gläschens ist doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen.

Die überstehenden Flüssigkeiten von III, IV, V wirken auf frische rote Rinderblutkörperchen nicht hämolytisch, sind also nicht saponinhaltig.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze von Glas III, IV, V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 1 ccm $^{n}/_{100}$-HCl hinzu. Das Filtrat reagiert deshalb sauer! Neutralisiert mit 1 ccm $^{n}/_{100}$-NaOH, wirkt es auf frisches Rinderblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 10 ccm $^{n}/_{100}$-NaOH. Das schwach alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 5 Tropfen $^{n}/_{100}$-HCl, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 5 und 6.

Versuch 8.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 14 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagensgläschen mit je 5 ccm dieses Zellbreies auf.

Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ „ + 1 ccm 1 %ige Saponinlösung „Roche".

Nach 12 Stunden: der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen.

Die überstehenden Flüssigkeiten von III, IV, V wirken auf frische rote Rinderblutkörperchen nicht hämolytisch.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze von Glas III, IV, V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 1 ccm $^n/_{100}$-HCl hinzu. Das Filtrat reagiert sauer. Neutralisiert mit 1 ccm $^n/_{100}$-NaOH wirkt es auf frisches Rinderblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 10 ccm $^n/_{100}$-NaOH. Das schwach alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 5 Tropfen $^n/_{100}$-HCl, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 5, 6 und 7. Auch hier wurden die durch Formalin gehärteten Hirnzellen bei Saponinzusatz voluminöser und verankerten dabei das Saponin so fest, daß es weder durch Waschen mit Kochsalzlösung noch durch angesäuertes Wasser entzogen werden konnte, wohl aber nach allen diesen Prozeduren durch alkalische Kochsalzlösung.

In den beiden folgenden Versuchen wollen wir nun sehen, ob die saure Auswaschung unbedingt vorhergehen muß, oder ob der alkalische Auszug allein für sich, ohne sie genügt.

Statt der $^n/_{100}$-NaOH und $^n/_{100}$-HCl benutze ich die $^n/_4$ Normallauge und -säure, um bei den Auszügen mit geringeren Mengen von Flüssigkeit zu arbeiten.

Versuch 9.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 14 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagensgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies.

Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ + 1 ccm 1 %ige Saponinlösung „Roche“.

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist ca. doppelt so voluminös wie der in den saponinfreien Kontrollgläschen. Ihre überstehende Flüssigkeit ist klarer als die in den Kontrollgläschen, wie wir es schon bei den ersten Versuchen (Nr. 1 bis 4) gesehen und betont haben.

Alkalischer Auszug: Die gesammelten Bodensätze der saponinhaltigen Gläschen (III bis V) wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm phys. NaCl + 12 Tropfen $^n/_4$-NaOH hinzu. Das Filtrat reagiert

alkalisch. Neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl wirkt es nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches menschliches Placentarblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug: Der Vollständigkeit halber schließe ich noch eine saure Auswaschung an. Ich wasche den Filterrückstand und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Das schwach saure Filtrat neutralisiere ich mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH, setze ihm einen Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches menschliches Placentarblut wirkt es nicht hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Mit Alkali kann man das in gehärteten menschlichen Hirnzellen verankerte Sapindus-Saponin, wie zu erwarten war, auch ohne vorhergehende Auswaschung mit Säure, ausziehen. Hinterher angeschlossen ist die saure Auswaschung natürlich ebenso negativ wie vorher.

Versuch 10.

Menschlicher Hirnzellenbrei, 3 Wochen unter 3,6 %igem Formalin gehalten, frei von Fäulnisgeruch. Ich stelle 5 Reagensgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies, nachdem dieser von Formalin durch Waschen völlig frei gemacht worden ist.

Zu Glas I u. II setze ich je 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ „ III, IV, V „ „ „ 9 „ „ „ + je 1 ccm Sapindus-Saponinlösung „Roche“.

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist ca. doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen. Die überstehende Flüssigkeit ist etwas trüber, saponinfrei.

Alkalischer Auzug: Die gesammelten Bodensätze der saponinhaltigen Gläschen III bis V wasche ich auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH hinzu. Das Filtrat reagiert alkalisch. Neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl und nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung wirkt es auf frisches menschliches Placentarblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug: Ich wasche den Filterrückstand und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $^{n}/_{4}$-HC. Das schwach saure Filtrat neutralisiere ich mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH, setze ihm 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches menschliches Placentarblut wirkt es nicht hämolytisch.

Der Kontrollversuch ergibt beide Male keine Hämolyse.

Ergebnis: Wie bei Versuch 9.

Fortsetzung des Versuches 10.

Den noch sauren Filterrückstand wasche ich mit phys. NaCl-Lösung, um noch einmal denselben Versuch mit ihm zu machen und zu sehen, ob die Zellen noch verankertes Saponin enthalten.

Zweiter alkalischer Auszug: Ich setze also dem gewaschenen, neutral reagierenden Zellbrei zum zweiten Male 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 12 Tropfen $^n/_4$-NaOH hinzu. Das alkalisch reagierende Filtrat neutralisiere ich mit 3 Tropfen $^n/_4$-HCl, setze 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu und lasse es auf frisches menschliches Placentarblut wirken. Es tritt sofort Hämolyse auf, auch noch beim 2. bis 4. Filtrat.

Saurer Auszug: Den Filterrückstand wasche ich und versetze ihn mit 5 ccm NaCl-Lösung + 18 Tropfen $^n/_4$-HCl. Das saure Filtrat neutralisiere ich mit 3 Tropfen $^n/_4$-NaOH, setze 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung hinzu. Auf frisches menschliches Placentarblut wirkt es nicht mehr hämolytisch.

Ergebnis: Unser Versuch 10 ist wiederum ein Beweis, daß Alkali das in den Hirnzellen trotz der Formalinhärtung verankerte Saponin freimacht, Säure dagegen auch nach vorhergehender Bearbeitung mit Alkali nicht. Denn wie wir aus der zweiten Hälfte des Versuches ersehen, befand sich bei der ersten sauren Auswaschung noch reichlich Saponin in den Hirnzellen, ging aber in das saure Medium über.

Wir ersehen also aus den vorstehenden Versuchen Nr. 5 bis 10:

1. daß menschliche Hirnzellen, durch Formalin gehärtet, sich dem Saponin „Roche" aus Fructus Sapindi Saponariae gegenüber ebenso verhalten, wie frische Kaninchenhirnzellen.

Außerdem haben wir dazu erfahren:

2. daß Säure auch mit vorhergehender alkalischer Auswaschung das Saponin nicht aus den Zellen freimachen kann;

3. daß dagegen Alkali auch ohne vorhergehende Auswaschung die Verankerung des Saponins in den Zellen wohl zu lösen imstande ist.

Es folgen der Zeit nach jetzt 3 Versuche (Nr. 11 bis 13) an ganz frischem Gehirn einer entbluteten Katze, die lediglich deshalb mißlangen, weil das Auswaschen von Niederschlägen aus frischen Gehirnemulsionen im Sommer ohne Zutritt von Fäulnis nur sehr schwer durchzuführen ist. Für etwaige Nachuntersuchungen, denen keine gute Zentrifuge zur Verfügung steht, möchte ich dies nicht unerwähnt lassen. Ein Teil des zerriebenen Katzengehirns war unter Formalin aufgehoben worden. Ich lasse den Bericht darüber folgen.

Versuch 14.

Katzenhirnzellen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %-igem Formalin gehalten, ohne Fäulnisgeruch. Ich stelle 6 Reagensgläschen auf mit je 5 ccm dieses Zellbreies.

Zu Glas I u. II tue ich je 10 ccm phys. NaCl-Lösung
" " III " IV " " " 9 " + 1 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 12 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist fast doppelt so voluminös wie der in den Kontrollgläschen. Die überstehende Flüssigkeit ist etwas trüber, saponinfrei.

Saurer Auszug: Die gesammelten Bodensätze der saponinhaltigen Gläschen III bis VI wasche ich ohne Mühe auf dem Filter und setze ihnen 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl hinzu. Das Filtrat ist klar, reagiert alkalisch. Neutralisiert mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH und nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches menschliches Placentarblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Ich wasche den Filterrückstand und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Das klare, erst schwach alkalische Filtrat wirkt nach seiner Neutralisation und nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Placentarblut sofort hämolytisch.

Denselben Versuch wiederhole ich nachstehend, nur in einer anderen Reihenfolge der Auszüge.

Versuch 15.

Katzenhirnzellen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %-igem Formalin gehalten, ohne Fäulnisgeruch.

Der alkalische Auszug ergibt sofort Hämolyse von frischen menschlichen Placentarblutkörperchen, der folgende saure Auszug dagegen nicht.

Diese Versuchsreihe bringt uns:

1. den Beweis für meine gleich anfangs gemachte Wahrnehmung, daß man beim Arbeiten mit frischen Zellen auf große, oftmals unüberwindliche technische Schwierigkeiten stoßen kann, falls man nicht eine sehr gut arbeitende Zentrifuge zur Verfügung hat.

2. Daß sich durch Formalin gehärtete Katzenhirnzellen unserem Sapindus-Saponin „La Roche" gegenüber ebenso verhalten wie gehärtete Hirnzellen vom Kaninchen und Menschen, und

3. daß sich die Verankerung des Saponins in den Zellen nur durch Einwirkung von Alkali lösen läßt

Die nächsten Versuche, bei denen ich wieder Kaninchen-

hirnzellen benutze, dienen nur zur Bestätigung von bereits gefundenen Resultaten.

Versuch 16.

Kaninchenhirnzellen, blutfrei, 8 Tage unter 100 ccm phys. NaCl-Lösung + 1 ccm Toluol gehalten. Zellbrei mehrfach gewaschen, enthält noch etwas Toluol.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ III bis V: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 18 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist zwar nicht voluminöser, aber das Toluol hat in Gestalt einer dicken Scheibe viele Zellen mit nach oben gerissen, die sich durch vorsichtigen Zusatz von Alkohol zum Absetzen bringen lassen.

Nach weiteren 3 Stunden: In allen Gläschen ist die oben befindliche Flüssigkeit klar, der Bodensatz von Glas III bis V fast doppelt so voluminös wie der von I und II. Ich wasche ihn mit NaCl auf dem Filter; Filtrat nicht saponinhaltig.

Saurer Auszug: Dann versetze ich ihn mit 5 ccm NaCl + 8 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Filtrat klar, sauer reagierend. Ich neutralisiere es mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH, setze 1 Tropfen gesättigte Chloridlösung hinzu. Auf frisches Meerschweinchenblut wirkt es nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 16 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Filtrat klar, alkalisch. Nach Neutralisation mit 2 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Meerschweinchenblut sofort hämolytisch. Die Kontrollversuche ergeben keine Hämolyse.

Versuch 17.

Kaninchenhirnzellen, blutfrei, 8 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm NaCl
„ III bis V: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Bodensatz von II doppelt so voluminös wie von I. Darüber befindliche Flüssigkeit saponinfrei.

Der alkalische Auszug von III bis V ergibt sofort Hämolyse von frischem Meerschweinchenblut, der darauf folgende saure Auszug dagegen nicht.

Ergebnis: Diese beiden Versuche zeigen uns nebenbei noch, daß unter Toluolwasser gehaltene Kaninchenhirnzellen sich dem Sapindus-Saponin „La Roche" gegenüber ebenso verhalten wie dieselben Zellen mit Formalin gehärtet.

Verschiedene andere, den vorhergehenden durchaus analog angestellte Versuche mit frischen Kaninchenhirnzellen mißlingen wieder durch Fäulniseintritt, wie ich hier nur kurz erwähnen will. Die Filtration des erst alkalisierten und dann angesäuerten Zellbreies ist ebenso erschwert wie die der in umgekehrter Reihenfolge behandelten Zellen. Die Filtrate bleiben trübe und sind zu hämolytischen Proben nicht zu gebrauchen.

Betrachten wir nun einmal die bisher vorgeführten Versuche auf den Ursprung des Zellenmaterials, so sehen wir, daß Hirnzellen sowohl vom Menschen wie vom Kaninchen und der Katze das Sapindus-Saponin „La Roche" verankern, und zwar selbst noch in gehärtetem Zustand. Berücksichtigen wir die Tatsache, daß unser Präparat nach der Wiedergewinnung aus den genannten Zellen rote Blutkörperchen von verschiedenen Lebewesen zur Hämolyse bringt, so können wir schließen, daß unser Saponin auch nach dem Wiedergewinnen nicht artspezifisch wirkt. Die Verankerung ist also ebenfalls keine artspezifische.

Weitere Belege für diesen Satz können wir im folgenden finden.

2. Versuche mit Sapindus-Saponin an anderen Zellarten.

In fast allen meinen bisherigen Versuchen habe ich das Saponin aus den Früchten der Sapindus Saponaria nur auf Hirnzellen einwirken lassen. Es liegt mir nun ob, das Verhalten von anderen Körperzellen zum Sapindus-Saponin „La Roche" zu ergründen, d. h. die beiden Fragen zu beantworten: Verankern auch andere Körperzellen das Saponin „La Roche" und kann man dieses durch Behandlung mit Alkali aus ihnen wieder entfernen?

Der Beantwortung dieser beiden Fragen sollen nun die folgenden Versuche dienen, in denen ich daraufhin Zellen bestimmter Organe prüfe. Welchen Ursprungs diese Organzellen sind, erwies sich auch hier gleichgültig; unser Saponin wirkt eben auch hier nicht artspezifisch.

a) Im Anfang des vorigen Kapitels (Versuch 3) sahen wir, daß nach der Einwirkung unseres Saponins auf eine bestimmte Menge von menschlichen Eiterzellen aus einem tuberkulösen Absceß diese ein vermehrtes Gesamtvolumen aufwiesen, mit

anderen Worten, daß sie das Saponin verankern. Daß wir diese Verankerung durch Einwirkung von Alkali lösen können, zeigt uns

Versuch 18 und 19.

Menschliche Eiterkörperchen aus einem tuberkulösen Absceß, 4 Tage unter Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Eiterzellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III bis VI: 5 „ „ + 9 „ „ „ + 1 ccm 1 %ige Saponinlösung.

Nach 12 Stunden: Bodensatz von III bis VI doppelt so voluminös wie von I und II, darüber befindliche Flüssigkeit saponinfrei.

Den Bodensatz von III und IV ziehe ich erst mit Säure, dann mit Alkali aus; den von Glas V und VI erst mit Alkali, dann mit Säure.

Saurer Auszug von Glas III und IV.

Ich bringe den Bodensatz auf ein Filter, versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl. Das leicht saure Filtrat neutralisiere ich mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH, setze 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung hinzu. Auf rote Blutkörperchen vom Rind wirkt es nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug von Glas III und IV.

Dem noch sauren Filterrückstand setze ich 5 ccm NaCl-Lösung + 18 Tropfen $^n/_4$-NaOH hinzu. Das alkalische Filtrat neutralisiere ich mit 2 Tropfen $^n/_4$-HCl, setze einen Tropfen gesättigter Chloridlösung hinzu. Auf frisches Rinderblut wirkt es sofort hämolytisch, ebenso die folgenden 3 Filtrate.

Der durchaus gleiche, nur in umgekehrter Reihenfolge der Auszüge verlaufende Versuch mit dem Bodensatz von V und VI fiel analog aus.

Ergebnis: Menschliche Eiterzellen verankern das Sapindus-Saponin „La Roche“. Die Verankerung wird durch Einwirkung von Alkali gelöst. Die Verhältnisse liegen also wie bei den Hirnzellen.

b) Nun gehe ich zu Versuchen mit Leberzellen über. Aus ihrer großen Anzahl seien einige wohlgelungene wiedergegeben. Dabei möchte ich gleich erwähnen, daß auch beim Experimentieren mit frischen Zellen dieses Organes mehrfach Mißerfolge zu verzeichnen waren, derselben Art, wie wir sie von den Versuchen mit frischen Hirnzellen kennen; ja ich will gleich vorwegnehmen, daß ich auf technische Schwierigkeiten überall stieß, wo ich mit frischen Zellen, welcher Art sie auch waren, arbeitete.

Versuch 20.

Leberzellen einer frisch sezierten menschlichen Leiche werden in fein verriebenem Zustand, um die Blutkörperchen zu lösen, mit hypo-

tonischer NaCl-Lösung versetzt. Nach 12 Stunden hat sich ein graugelber aus Leberzellen bestehender Bodensatz abgesetzt. Die überstehende, rötliche Flüssigkeit wird abgehebert, der Leberzellenbrei auf dem Filter gewaschen und so ganz blutfrei gemacht. Aufstellung der Gläser wie bei Hirnzellen.

Glas I u. II: 5 ccm dieser Leberzellen + 10 ccm phys. ClNa-Lösung
„ III u. IV: 5 „ „ „ + 9 „ „ NaCl + 1 ccm Saponin „La Roche".

Nach 24 Stunden: Der Bodensatz von Glas III und IV fast doppelt so voluminös als der von Glas I und II. Die überstehende Flüssigkeit ist saponinfrei. Die folgenden Auswaschungen werden analog denen in Versuchen mit Hirnzellen ausgeführt.

Saurer Auszug von Glas III und IV.

Ich bringe den Bodensatz auf ein Filter und versetze ihn mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Filtrat klar, sauer reagierend. Neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH, und nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Filtrat klar, alkalisch. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Pferdeblut sofort hämolytisch.

Die Kontrollversuche mit Glas I und II ergeben keine Hämolyse.

Versuch 21.

Leberzellen vom Kaninchen, wie in Versuch 20 hergestellt und blutfrei gemacht, 36 Stunden unter Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Leberzellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III bis VI: 5 „ „ + 10 „ „ „ + 1 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 15 Stunden: Der Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen ist etwas voluminöser als der in den Kontrollgläschen. Die überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug: Den saponinhaltigen Leberzellenbrei versetze ich auf dem Filter mit 5 ccm NaCl + 12 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Das Filtrat ist klar und reagiert schwach alkalisch. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches menschliches Placentarblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug: Den noch alkalischen Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Das Filtrat ist klar, schwach sauer. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH und Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung wirkt es auf frisches menschliches Placentarblut nicht hämolytisch.

Die Kontrollversuche ergeben keine Hämolyse. Ein nach der sauren Auswaschung noch folgender zweiter alkalischer Auszug ergibt auch keine Hämolyse mehr.

Versuch 22.

Wie vorher, nur umgekehrte Reihenfolge der Auszüge. Leberzellen vom Kaninchen, 36 Stunden unter Formalin gehalten.

Glas I u. II: 5 ccm Leberzellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III bis VI: 5 „ „ + 9 „ „ „ + 1 ccm 1 %iges Sapindus-Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Bodensatz der saponinhaltigen Gläschen voluminöser als der in den Kontrollgläschen.

Saurer Auszug von III bis VI: Keine Hämolyse von frischem Placentarblut.

Alkalischer Auszug von III bis VI: Sofortige Hämolyse von frischem Placentarblut durch das freigemachte Saponin.

Versuch 23.

Frische, wie oben beschrieben hergestellte Katzenleberzellen.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III u. IV: 5 „ „ + 9 „ „ „ + 1 ccm 1 %-iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Bodensatz von III und IV etwas voluminöser als von I und II. Überstehende Flüssigkeit von III und IV klar, saponinfrei.

Saurer Auszug: Saponinhaltiger Bodensatz auf dem Filter + 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl. Filtrat schwach sauer. Nach Neutralisation mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH und Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung wirkt es auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Saurer Filterrückstand + 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Filtrat alkalisch. Nach Neutralisation mit 2 Tropfen $^n/_4$-HCl, Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung wirkt es auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch. Die Kontrollversuche ergeben keine Hämolyse.

Versuch 24.

Katzenleberzellen, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „ + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Alkalischer Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Saurer Auszug von II ergibt keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut, ebensowenig die Kontrolle.

Versuch 25. Umkehrung von Versuch 24.

Katzenleberzellen, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „ + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Saurer Auszug von II: keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Alkalischer Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Versuch 26.

Kaninchenleberzellen, wie oben beschrieben hergestellt, 24 Stunden unter stark verdünntem Wasserstoffsuperoxyd gehalten und dann gewaschen.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „
+ 2 „ Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Saponinhaltiger Bodensatz viel voluminöser als der saponinfreie.

Saurer Auszug von II: Keine Hämolyse von frischem Pferdeblut.

Alkalischer Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem Pferdeblut.

2. Saurer Auszug von II: Wieder keine Hämolyse.

2. Alkalischer Auszug von II: Noch schwache Hämolyse.

Versuch 27.

Schweineleberzellen, wie oben beschrieben hergestellt, 24 Stunden unter Formalin gehalten.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „
+ 2 „ 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Saponinhaltiger Bodensatz viel voluminöser als der saponinfreie.

Saurer Auszug von II: Keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Alkalischer Auszug von II: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Kontrolle: Keine Hämolyse.

Versuch 28. Umgekehrt wie Versuch 27.

Schweineleberzellen, wie oben hergestellt, 24 Stunden unter Formalin gehalten.

Alkalischer Auszug: Sofortige Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Saurer Auszug: Keine Hämolyse von frischem menschlichem Placentarblut.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 29.

Leberzellen vom Meerschweinchen, wie oben beschrieben hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten, gewaschen und in zwei Portionen aufgestellt.

Glas I: 10 ccm Leberzellen + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „
+ 2 „ 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Die Zellen bilden in beiden Gläsern einen kompakten Bodensatz, in II fast doppelt so voluminös wie in 1. Überstehende Flüssigkeiten beiderseits klar, von II saponinfrei.

Saurer Auszug: Den saponinhaltigen Bodensatz versetze ich mit 10 ccm phys. NaCl-Lösung + 8 Tropfen $^n/_4$-HCl. Filtrat klar, sauer. Nach Neutralisation mit 2 Tropfen $^n/_4$-NaOH und Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung wirkt es auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 10 ccm NaCl + 20 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Filtrat klar, alkalisch; nach Neutralisation mit 1 Tropfen $^n/_4$-HCl und Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung wirkt es auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Die Zellen aus dem Kontrollgläschen I benutze ich zu einem neuen, diesem analogen Versuch mit umgekehrter Reihenfolge der Auswaschungen. Zu Glas I setze ich noch 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche" hinzu, also:

Versuch 30.

10 ccm Leberzellen vom Meerschweinchen + 15 ccm + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Zellen liegen am Boden, überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei. Der Prozeß der alkalischen Extraction der Leberzellen macht sofort das Saponin frei; das Filtrat wirkt auf frisches Menschenblut hämolytisch. Das Filtrat des sauren Auszuges bewirkt keine Hämolyse.

Auf Grund dieser Versuche mit Leberzellen können wir behaupten,

1. daß Leberzellen, selbst nach mehrtägiger Aufbewahrung in Formalin, eine gewisse Menge vom Sapindus-Saponin verankern; ob diese Zellen vom Menschen, vom Kaninchen, der Katze, dem Schwein oder dem Meerschweinchen stammen, ist ganz gleich;

2. daß diese Verankerung mit einer deutlichen Volumenvermehrung einhergeht;

3. daß das Saponin durch Einwirkung von Alkali den Leberzellen zu entziehen ist, durch Einwirkung von Salzsäure jedoch nicht.

Kurz gesagt: Leberzellen verhalten sich dem Sapindus-Saponin gegenüber analog den Hirnzellen.

c) Der Ausfall dieser Versuche bestärkt mich in meinem Vorsatz, noch eine dritte Gruppe von Organzellen, und zwar blutfreie Nierenzellen, zu analogen Versuchen heranzuziehen. Dabei bemerke ich, daß ich auch dabei stets Kontrollversuche machte, auch wenn ich sie im nachstehenden nicht erwähne.

Versuch 31.

Frische, zerriebene, wie Leberzellen hergestellte Nierenzellen von der Katze, in 2 Portionen angesetzt.

Glas I: 3 ccm Zellbrei + 8 ccm NaCl.
„ II: 3 „ „ + 7 „ „ + 1 ccm 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: In beiden Gläsern haben sich die Zellen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt; der saponinhaltige ist sichtlich voluminöser.

Alkalischer Auszug von Glas II.

Da die überstehende Flüssigkeit etwas saponinhaltig ist, wasche ich den Bodensatz auf dem Filter, bis das Filtrat keine hämolytische Wirkung mehr aufweist. Dann erst versetze ich mit 5 ccm NaCl + 8 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Filtrat alkalisch, mit 2 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl neutralisiert, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch.

Der saure Auszug ergibt keine Hämolyse.

Ergebnis: Das Verhalten des Saponins zu Nierenzellen unterscheidet sich in keiner Weise von dem zu Leberzellen.

d) Der günstige Ausfall veranlaßte mich zu einer weiteren Gruppe von Versuchen, nämlich an Milzzellen.

Versuch 32.

Wie vorher blutfrei gemachte und hergestellte Milzzellen vom Kaninchen, 4 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten. Umkehrung des vorhergehenden Versuches. Erst der saure Auszug, bei dem keine Hämolyse von frischem Katzenblut auftritt, dann der alkalische Auszug, der das Saponin aus den Zellen frei macht.

Versuch 33.

Frische, blutfreie Milzzellenaufschwemmung vom Schwein, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „
+ 2 „ 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Zellen bilden in beiden Gläsern kompakten Bodensatz, in II fast doppelt so voluminös wie in I. Überstehende Flüssigkeit von II saponinfrei.

Saurer Auszug von Bodensatz II mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl. Filtrat sauer, mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH neutralisiert, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 2 Tropfen $^n/_4$-HCl wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Natriumchloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Versuch 34.

Blutfreie, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehaltene Milzzellen vom Schwein, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 10 ccm Zellbrei + 15 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 10 „ „ + 13 „ „ „
+ 2 „ 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: Zellen bilden in beiden Gläsern kompakten Bodensatz, in II sichtlich voluminöser.

Beim alkalischen Auszug erfolgt sofort Hämolyse von frischem Menschenblut, beim sauren dagegen nicht.

Ergebnis: Auch das Verhalten des Saponins zu Milzzellen stimmt mit dem gegen Leberzellen und Hirnzellen durchaus überein.

e) Ich lasse Versuche an Dünndarmzellen folgen.

Versuch 35.

Frische Dünndarmzellen von der Katze, mit einem stumpfen Messer von der gut gereinigten Darmschleimhaut abgeschabt, wie die früheren Zellen hergestellt, und in 6 Gläsern aufgestellt.

Glas I und II: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III bis VI: 5 „ „ + 8 „ „ „ „
+ 2 „ 1%iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden: In allen Gläschen haben sich die Zellen zu Boden gesetzt, in III bis VI ein bedeutend größeres Volumen einnehmend als in I und II. Hier die überstehenden Flüssigkeiten saponinhaltig.

Saurer Auszug der exakt gewaschenen Bodensätze von III bis VI mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Ich bekomme damit im Filtrat das Saponin frei, das auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch wirkt.

Der daran angeschlossene zweite saure Auszug ergibt wieder keine Hämolyse; dagegen tritt beim folgenden zweiten alkalischen Auszug noch schwache, aber immerhin deutliche Hämolyse auf.

Versuch 36.

Dünndarmzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 24 Stunden unter 3,6 %igem Formalin gehalten und in 2 Portionen aufgestellt. 10 ccm Zellbrei + 7 ccm NaCl + 3 ccm 1 %iges Saponin „Roche"; die andere Portion als Kontrolle.

Nach 24 Stunden bilden die Zellen nur im Saponingläschen einen kompakten Bodensatz. Überstehende Flüssigkeit enthält etwas überschüssiges Saponin.

In dem alkalischen Auszug des exakt gewaschenen Bodensatzes erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Kaninchenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Ergebnis: Dünndarmzellen verhalten sich dem Saponin gegenüber geradeso wie die vorher genannten Zellarten.

f) Zum Schluß möge ein Versuch mit Placentarzellen folgen.

Versuch 37.

Placentarzellen vom Meerschweinchen, wie vorher vom Blut befreit und hergestellt, 4 Tage unter 3,6 %igem Formalin gehalten und nur in einer Portion aufgestellt: 10 ccm Zellbrei + 8 ccm phys. NaCl + 2 ccm 1 %iges Saponin „Roche".

Nach 24 Stunden bilden die Zellen einen kompakten Bodensatz. Darüber befindliche Flüssigkeit saponinhaltig.

Der alkalische Auszug des exakt gewaschenen Bodensatzes liefert ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt. Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Der daran angeschlossene zweite alkalische Auszug ergibt dagegen nochmals schwache Hämolyse.

Gesamtergebnis.

Durch diese Versuche glaube ich den Beweis erbracht zu haben, daß wie Gehirnzellen so auch Eiter-, Leber-, Nieren-, Milz-, Dünndarm- und Placentarzellen das Saponin „La Roche" verankern können, und daß man diese Substanz durch Einwirkung von Alkali ihnen wieder entziehen kann. Härtung der Zellen durch Formalin erleichtert die Versuche. Der alkalische Zellauszug ohne Sa-

ponin wirkte nie hämolytisch. Den Einwand, daß es sich bei meinen Versuchen um Wirkung z. B. von ölsaurem Natrium handele, kann man also mir nicht machen. Es bleibt nur die Annahme möglich, daß das Saponin „Roche“ mit allen, oder jedenfalls den verschiedensten Körperzellen eine in Wasser unlösliche Verbindung eingeht, wodurch deren Volumen vermehrt wird. Diese Verankerung kann entgegengesetzt wie bei den Agglutininen nicht durch Einwirkung von Säure gelöst werden, sondern nur durch Einwirkung von Alkali. Das ganze Verhalten macht den Eindruck, als wandele sich das an sich neutrale, in Wasser leicht lösliche Sapindussaponin in ein saures Saponin oder in ein Anfangssapogenin im Sinne von Kobert um.

3. Versuche über das Verhalten des Saponin „Sthamer“ aus der Quillajarinde zu Körperzellen.

Die Quillajarinde enthält nach Versuchen Koberts, die in die Jahre 1884 und 1885 fallen, zwei Saponine, die er als Quillajasäure und Quillaja-Sapotoxin bezeichnete. Beide sind in Wasser löslich, allerdings das Sapotoxin außerordentlich viel leichter als die Quillajasäure. Beide sind bei Einspritzung ins Blut sehr giftig. Die tödliche Dose für die Quillajasäure beträgt 1 mg pro Kilo Tier und die des Sapotoxins sogar nur $^1/_2$ mg pro Kilo. Das Sapindus-Sapotoxin ist im Vergleich damit viel weniger giftig. Das bekannteste Präparat aus der Quillajarinde ist das Saponin der Firma Sthamer in Hamburg. Es ist im Gegensatz zu dem schneeweißen Sapindus-Saponin ein gelblich-braunes Pulver, das 72 $^0/_0$ reine Saponine enthält. Die übrigen 18 $^0/_0$ kommen auf Feuchtigkeit, Zucker und Aschenbestandteile.

Dieses Saponin Sthamer benutzte ich in einer 1 $^0/_0$igen Lösung, frisch hergestellt und neutralisiert, bei den folgenden Versuchen. An und für sich reagiert das Präparat sauer. Betreffs dieser Versuche sowie auch der mit anderen Saponinen angestellten will ich vorbemerken, daß ich mich bei ihnen von denselben Gesichtspunkten leiten ließ, wie bei den mit Saponin „Roche“ ausgeführten. Sie lehnen sich darum dem Verfahren und der Reihenfolge nach ganz an diese an. Obwohl die Quillajasäure ein saures Saponin ist, gehört sie doch nicht in

die Gruppe der beim Ansäuern selbst verdünnter Lösungen ausfallenden Saponine. Eine Änderung der Versuchstechnik gegenüber den Versuchen mit Sapindus-Saponin war also nicht nötig. Die Grenze der hämolytischen Kraft des Saponin Sthamer auf $2^0/_0$iges Rinderblut liegt, wie ich festgestellt habe, bei meiner Versuchstechnik bei einer Konzentration von 1 : 10000, d. h. bei einer Verdünnung, die ich in meinen Versuchen mit Zellenauszügen nicht erreiche. Folglich mußten meine Auszüge sich stets nach der hämolytischen Methode prüfen lassen.

Versuch 38.

Frische, wie vorher beschrieben, präparierte blutfreie Hirnzellen vom Menschen, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 10 „ $1^0/_0$ige Lösung von Saponin Sthamer in phys. ClNa-Lösung.

Nach 24 Stunden: Die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II fast doppelt so voluminös ist wie in Glas I. Seine überstehende Flüssigkeit ist stark saponinhaltig.

Saurer Auszug von Glas II, dessen Bodensatz auf dem Filter so lange gewaschen war, bis das Filtrat nicht mehr saponinhaltig war. Dann versetze ich ihn mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 12 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $^n/_4$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Dieser Versuch mit den frischen Zellen war wie alle früheren mit frischen Zellen wieder sehr schwierig. Die Kontrolle, d. h. der alkalische Auszug von nicht saponisierten Zellen, ergab keine Hämolyse.

Versuch 39.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, aber 4 Tage unter $3{,}6^0/_0$igem Formalin gehalten in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: je 5 ccm Zellbrei + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ $1^0/_0$iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden bilden die Zellen in beiden Gläsern einen kompakten Bodensatz, der in II bedeutend voluminöser ist als in I, und dessen überstehende Flüssigkeit nicht saponinhaltig ist.

Alkali-Auszug von Bodensatz II mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 12 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaON. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch.

Saurer Auszug des noch alkalischen Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 10 Tropfen $^{n}/_{4}$-NHC ergibt keine Hämolyse von frischem Menschenblut.

Der daran angeschlossene zweite alkalische Auszug ergibt nochmals Hämolyse, macht also noch Saponin aus den Zellen frei.

Die Kontrolle ergibt keine Hämolyse, weder an sich noch nach alkalischem Ausziehen.

Versuch 40.

Hirnzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 8 Tage unter Formalin gehalten, in 2 Portionen aufgestellt. Wie Versuch 39.

Glas I: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1 %iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden Bodensatz von II fast doppelt so voluminös wie der von I.

Der alkalische Auszug von Bodensatz II ergibt sofort Hämolyse von frischem Pferdeblut.

Der daran angeschlossene saure Auszug ergibt keine Hämolyse.

Kontrolle keine Hämolyse.

Ergebnis: Hirnzellen verhalten sich dem Saponin Sthamer gegenüber wie dem Saponin LaRoche gegenüber; auch dieses Präparat nimmt nach der Lösung aus der Verankerung keine artspezifischen Eigenschaften an.

Versuch 41.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 24 Stunden unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 4 Gläschen aufgestellt.

Glas I u. II: 5 ccm Zellbrei + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III „ IV: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1 %iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden ist der Bodensatz von Glas III und IV fast doppelt so voluminös wie der von Glas I und II, die überstehende Flüssigkeit von Glas III und IV saponinfrei.

Saurer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 6 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Filtrat sauer, neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 18 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen ge-

sättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch. Saponin ist also im Filtrat enthalten. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 42.

Leberzellen vom neugeborenen Meerschweinchen, wie vorher hergestellt, 4 Tage unter Formalin gehalten, in einer Portion aufgestellt.

7 ccm Zellbrei + 8 ccm phys. NaCl-Lösung + 2 ccm Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden bilden die Zellen einen kompakten Bodensatz. Darüberstehende Flüssigkeit schwach saponinhaltig.

Alkalischer Auszug des exakt gewaschenen Bodensatzes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 14 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH ergibt sofort Hämolyse von frischem menschlichen Placentarblut.

Saurer Auszug des noch alkalischen Filterrückstandes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 20 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl ergibt keine Hämolyse. Der darauffolgende zweite alkalische Auszug ergibt nochmals Hämolyse.

Kontrolle keine Hämolyse.

Versuch 43.

Milzzellen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igen Formalin gehalten in 4 Gläschen aufgestellt.

Glas I u. II: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ III „ IV: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas III und IV voluminöser als von Glas I und II. Überstehende Flüssigkeit in Glas III und IV saponinfrei.

Der alkalische Auszug liefert ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse, die Kontrolle ebenfalls keine Hämolyse.

Versuch 44.

Dünndarmschleimhautzellen von der Katze, wie oben beschrieben hergestellt, 24 Stunden unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden Bodensatz von Glas II bedeutend voluminöser. Die darüberstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein saponinhaltiges Filtrat, das auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 45.

Die Dünndarmschleimhautzellen der Katze, die die Kontrolle des vorigen Versuches gebildet hatten, werden mit 1 ccm Saponin Sthamer versetzt. Saurer Auszug ergibt keine Hämolyse. Alkalischer Auszug ergibt sofort Hämolyse.

Versuch 46.

Blutfreie Placentarzellen vom Meerschweinchen, wie üblich hergestellt, 4 Tage unter 3,6%iges Formalin gehalten, in 2 Portionen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin Sthamer.

Nach 24 Stunden ist der Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von Glas I.

Der saure Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Kaninchenblut nicht hämolytisch wirkt.

Der alkalische Auszug des noch sauren Filterrückstandes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Kaninchenblut sofort hämolytisch wirkt, somit also saponinhaltig ist.

Das Filtrat des zweiten sauren Auszuges ergibt wieder keine Hämolyse; das des zweiten alkalischen hingegen nochmals Hämolyse. Die Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Gesamtergebnis.

Diese Versuchsreihe lehrt, daß das Gemisch der Quillajarinden-Saponine von Sthamer mit verschiedenartigen Körperzellen, wie Zellen der Leber, Niere, Milz, Placenta und der Dünndarmschleimhaut, eine feste Verbindung eingeht, die durch Einwirkung von Alkali zerlegt wird. Unser Präparat gleicht also darin ganz dem Saponin der Sapindusnüsse.

4. Versuche über das Verhalten des Saponalbins auf isolierte Organzellen.

Der Name Saponalbin bezeichnet das neutrale Saponin aus der sogenannten Saponaria alba. Diese Wurzel stammt tatsächlich von zwei ganz verschiedenen Pflanzen, nämlich von der Gypsophila paniculata und von der Gypsophila Arrostii. Die Firma Merck bringt seit Jahrzehnten ein schneeweißes, fast aschefreies Saponinum purissimum „Merck“ in

den Handel, das aus Gypsophila paniculata dargestellt zu sein scheint und das ich daher in nachstehendem als Saponalbin bezeichnet habe. Es enthält über 90 % reines Saponin. Die Giftigkeit ist nicht unbeträchtlich, sie steht aber der der Quillajasäure nach.

Die Grenze der hämolytischen Kraft des Saponalbins auf 2 %iges Rinderblut habe ich bei der von mir angewandten Methodik als bei einer Konzentration von 1 : 20000 liegend gefunden.

In den folgenden Versuchen, die ich nach bekanntem Muster anstelle, gebrauche ich das Präparat in einer 1 %igen Lösung.

Versuch 47.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher beschrieben hergestellt, 6 Tage unter Formalin gehalten in 2 Gläsern aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
" II: 5 " " + 9 " " "
+ 1 " 1 %iges Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II fast doppelt so voluminös ist, wie in Glas I. Die überstehende Flüssigkeit von Glas II ist klar und saponinfrei.

Saurer Auszug: Den Bodensatz von Glas II versetze ich mit 5 ccm NaCl + 6 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 18 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch. Filtrat also saponinhaltig.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 48.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage lang unter 3,6 %igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
" II: 5 " " + 9 " " "
+ 1 " 1 %iges Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von I, seine überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei.

Saurer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 6 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl. Filtrat sauer, neutralisiert mit 1 Tropfen

$^{n}/_{4}$-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 18 Tropfen $^{n}/_{4}$-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $^{n}/_{4}$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 49.

Umgekehrt wie vorher, Leberzellen von der Katze, 6 Tage lang unter 3,6%igem Formalin gehalten.

Das Filtrat des alkalischen Auszuges wirkt auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch, das des folgenden sauren nicht.

Versuch 50.

Nierenzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
" II: 5 " " + 9 " " "
+ 1 " 1%iges Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Durch den alkalischen Auszug erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt. Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 51.

Milzzellen vom Schwein, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
" II: 5 " " + 9 " " " + 1 ccm Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II voluminöser als von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Der saure Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch wirkt.

Der alkalische Auszug ergibt ein Filtrat, das auf frisches Menschenblut nach dem Neutralisieren sofort hämolytisch wirkt, also saponinhaltig ist.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 52.

Dünndarmzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
" II: 5 " " + 9 " " " + 1 ccm Saponalbin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II doppelt so voluminös wie von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das neutralisiert auf frisches Pferdeblut sofort hämolytisch wirkt, somit saponinhaltig ist.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 53.

Umgekehrt wie vorher, d. h. die Kontrollgläschen mit Dünndarmzellen von der Katze, 6 Tage lang unter Formalin gehalten, vom vorigen Versuch werden z. T. mit Saponin versetzt und verarbeitet.

Das Filtrat des sauren Auszuges wirkt bei allen auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch, das des alkalischen bei den mit Saponin versetzten nach dem Neutralisieren sofort hämolytisch, ist damit also als saponinhaltig erwiesen.

Ergebnis: Das Saponinalbin in Form des Saponinum purissimum Merck aus der Gypsophila paniculata verhält sich diversen Körperzellen gegenüber wie die beiden vorherigen Saponinsubstanzen, d. h. es verbindet sich, selbst wenn die Zellen tagelang unter Formalin aufgehoben worden sind, nach Entfernung dieses Konservierungsmittels mit den gehärteten Zellen. Diese Verbindung ist eine so feste, daß weder viel Wasser noch verdünnte Salzsäure sie zu sprengen vermag; wohl aber hebt verdünnte Natronlauge oder kohlensaures Natrium sie leicht auf und führt das Saponin in aktiver Form wieder in Lösung über.

5. Versuche über das Verhalten des neutralen Saponins der Assamteesamen auf isolierte Organzellen.

Der Assamtee, Thea assamica, ist eine Varietät des chinesischen Tees. Er enthält in den Früchten neben reichlichen Mengen von Fett zwei Saponinsubstanzen, die Assamsäure und Assamin genannt werden. Das von mir benutzte Assaminpräparat ist hergestellt aus einer großen Menge von Assamteesamen, die unser Institut aus den Tropen bezogen hatte. Genauere Untersuchungen darüber sind seinerzeit von Jos. Halberkann [1]) gemacht worden, der feststellte, daß unser Präparat zur Hauptmenge aus Assamin besteht. Daneben sind unorganische Substanzen und etwas Zucker vorhanden. Es ist

[1]) Diese Zeitschr. 19, 1909, 310.

ein schneeweißes, sehr aschearmes Pulver. Die Grenze seiner hämolytischen Kraft auf frisches Rinderblut liegt nach meinen Versuchen bei einer Konzentration von 1 : 10000. In den Organzellenversuchen benutze ich es in einer 1%igen Lösung. Das Assamin ist in neutraler, alkalischer und saurer Lösung löslich.

Versuch 54.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher beschrieben hergestellt, 6 Tage unter Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II fast doppelt so voluminös ist wie in Glas I, die überstehende Flüssigkeit von Glas II ist klar und saponinfrei.

Saurer Auszug: Den Bodensatz von Glas II versetze ich mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 6 Tropfen n/4-HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen n/4-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Kochsalz auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 18 Tropfen n/4-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen n/4-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Kochsalzlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch; Filtrat also saponinhaltig.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 55.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage lang unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von I, seine überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei.

Saurer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 6 Tropfen n/4-HCl. Filtrat sauer, neutralisiert mit 1 Tropfen n/4-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Katzenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug des noch sauren Filterrückstandes mit 5 ccm NaCl + 18 Tropfen n/4-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit

1 Tropfen $^n/_4$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen Natriumchloridlösung auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 56.

Umgekehrt wie vorher. Leberzellen von der Katze, 6 Tage lang unter 3,6%igem Formalin gehalten.

Das Filtrat des alkalischen Auszuges wirkt auf frisches Katzenblut sofort hämolytisch, das des folgenden sauren nicht.

Versuch 57.

Nierenzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II bedeutend voluminöser als der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit nicht saponinhaltig.

Der alkalische Auszug liefert ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 58.

Milzzellen vom Schwein, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II voluminöser als von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Der saure Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch wirkt.

Der alkalische Auszug ergibt ein Filtrat, das nach dem Neutralisieren auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt, also saponinhaltig ist.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 59.

Dünndarmzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Saponin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II doppelt so voluminös wie von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit saponinfrei.

Alkalischer Auszug des saponinhaltigen Bodensatzes ergibt ein Filtrat, das neutralisiert auf frisches Pferdeblut sofort hämolytisch wirkt, somit saponinhaltig ist.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse.

Versuch 60.

Umgekehrt wie vorher, d. h. die Kontrollportionen der Dünndarmzellen von der Katze, 6 Tage lang unter Formalin gehalten, werden z. T. mit Assamin versetzt.

Das Filtrat des sauren Auszuges der mit Assamin versetzten Zellen wirkt auf frisches Pferdeblut nicht hämolytisch, das des alkalischen wirkt nach dem Neutralisieren sofort hämolytisch, ist damit also als saponinhaltig erwiesen.

Ergebnis: Das Assamin, d. h. das neutrale Saponin des Assamtees, verhält sich Körperzellen gegenüber analog den anderen Saponinen, über die ich vorher berichtet habe, d. h. es vergrößert deren Volumen, verankert sich dabei an diese, und diese Bindung ist weder durch Waschen mit neutraler noch mit saurer Kochsalzlösung zerlegbar, wohl aber durch Behandlung mit alkalisch gemachter.

6. Versuche über das Verhalten des Senegins zu isolierten Organzellen.

Die Polygala Senega enthält in ihrer Wurzel zwei Saponinsubstanzen, die nach Kobert als Polygalasäure und Senegin bezeichnet werden. Die Polygalasäure ist in Wasser ohne Alkali kaum löslich, das Senegin aber wohl. Die ersten pharmakologischen Untersuchungen über das Senegin hat Joseph Atlas[1]) im Jahre 1898 angestellt. Die tödliche Dose bei Einspritzung ins Venensystem liegt für Senegin 10 mal höher als bei dem Sapotoxin, d. h. bei 5 mg pro Kilo Hund.

Das von mir bei den folgenden Versuchen benutzte Senegin ist im hiesigen Institut nach verbesserter Methode hergestellt worden. Seine hämolytische Kraft auf 2%iges Rinderblut ist beträchtlicher als bei dem Präparat von Atlas; sie liegt bei

[1]) Arbeiten des Pharmakol. Instit. der Kgl. Univ. Dorpat, hrsgeg. von R. Kobert, 1 (Stuttgart 1889), 57.

einer Konzentration von 1 : 30000. Meine Lösung war 1 $^0/_0$ig in physiol. Kochsalzlösung.

Versuch 61.

Hirnzellen vom Kaninchen, wie vorher beschrieben hergestellt, 6 Tage unter Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 $^0/_0$iges Senegin.

Nach 24 Stunden: Die Zellen haben sich in beiden Gläschen zu einem kompakten Bodensatz abgesetzt, der in Glas II doppelt so voluminös ist wie in Glas I, die überstehende Flüssigkeit von Glas II ist klar und saponinfrei.

Saurer Auszug: Den Bodensatz von Glas II versetze ich mit 5 ccm phys. NaCl-Lösung + 6 Tropfen $^n/_4$-HCl. Filtrat sauer reagierend, neutralisiert mit 1 Tropfen $^n/_4$-NaOH, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch.

Alkalischer Auszug: Den noch sauren Filterrückstand versetze ich mit 5 ccm physiol. NaCl-Lösung + 18 Tropfen $^n/_4$-NaOH. Filtrat alkalisch, neutralisiert mit 1 Tropfen $^n/_4$-HCl, wirkt nach Zusatz von 1 Tropfen gesättigter Chloridlösung auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch; Filtrat also saponinhaltig.

Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 62.

Leberzellen von der Katze, wie vorher hergestellt, 6 Tage lang unter 3,6 $^0/_0$igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm NaCl
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ + 1 ccm 1 $^0/_0$iges Senegin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II fast doppelt so voluminös wie der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit klar, saponinfrei.

Durch alkalisches Ausziehen erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle keine Hämolyse.

Versuch 63.

Umgekehrt wie vorher, d. h. Leberzellen von der Katze, 6 Tage lang unter 3,6 $^0/_0$igem Formalin gehalten, die im vorigen Versuche als Kontrolle gedient hatten. Ein Teil dieser Gläser wird mit Senegin versetzt. Das Filtrat des sauren Auszuges wirkt auf frisches Menschenblut nicht hämolytisch, das neutralisierte Filtrat des folgenden alkalischen Auszugs wirkt sofort hämolytisch.

Versuch 64.

Nierenzellen vom Kaninchen, wie vorher hergestellt, 6 Tage unter 3,6%igem Formalin gehalten, in 2 Gläschen aufgestellt.

Glas I: 5 ccm Zellen + 10 ccm phys. NaCl-Lösung
„ II: 5 „ „ + 9 „ „ „
+ 1 „ 1%iges Senegin.

Nach 24 Stunden: Bodensatz von Glas II bedeutend voluminöser als der von Glas I, seine überstehende Flüssigkeit nicht saponinhaltig.

Durch alkalisches Ausziehen erhalte ich ein saponinhaltiges Filtrat, das neutralisiert auf frisches Menschenblut sofort hämolytisch wirkt.

Das Filtrat des sauren Auszuges ergibt keine Hämolyse. Kontrolle ergibt keine Hämolyse.

Versuch 65 bis 68.

Vier weitere Versuche mit Katzendünndarmzellen ergeben ausnahmslos, daß das Filtrat des alkalischen Auszuges nach dem Neutralisieren Hämolyse bewirkt; das heißt, es ist saponinhaltig; das des sauren macht keine Hämolyse.

Ergebnis: Durch diese Versuche mit dem Senegin glaube ich dargelegt zu haben, daß es sich Körperzellen gegenüber ebenso verhält wie die vier vorhergehenden Saponinsubstanzen.

Hauptergebnisse sämtlicher Versuchsreihen.

Überblicken wir nun noch einmal alle hier vorgeführten Versuche, so können wir sagen:

1. Körperzellen recht verschiedener Art, wie Thymusleukocyten, Eiterzellen, Schleimhautzellen des Dünndarms, Milzzellen, Leberzellen, Nierenzellen, Gehirnzellen und Placentarzellen, verankern eine gewisse Menge der aus der Gruppe der wasserlöslichen Saponinsubstanzen beliebig herausgegriffenen Glieder, nämlich des Saponin „La Roche“, Saponin „Sthamer“, Saponalbin, des Assamins und des Senegins so fest, daß sie durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung dem Zellbrei nicht entzogen werden können.

2. Diese Verankerung ist mit einer sehr deutlichen Volumenvermehrung verbunden.

3. Die bei der Verbindung der vegetabilischen Hämagglutinine mit den Körperzellen anwendbare Zerlegung der Verbindung von Zelle und Gift durch verdünnte Salzsäure gelingt hier nicht, da die Saponinsubstanzen sich offenbar nicht analog den Agglutininen verankern, d. h. nicht die Rolle einer Säure den Körperzellen gegenüber spielen, sondern die einer Base. Ihrer chemischen Reaktion nach sind sowohl die vegetabilischen Agglutinine als die meisten Hämolysine, die ich verwandt habe, durchaus neutrale Stoffe. Wohl aber wird bei diesem Waschen mit salzsäurehaltiger physiologischer Kochsalzlösung der letzte Rest etwa noch vorhandenen nicht verankerten Saponins ausgewaschen, da diese neutralen Saponine in saurem Wasser löslich sind.

4. Behandeln der Zellen nach der sauren Auswaschung mit Alkali macht die Saponine wieder frei. Mit dem so gewonnenen und dann neutralisierten Filtrat kann man typische rasche Saponinwirkung auf rote Blutkörperchen von Tieren und Menschen hervorrufen.

5. Kobert hat auf die Verankerung der Agglutinine und deren Wiederabspaltbarkeit eine Methode des biologischen Nachweises des Ricins und Abrins für gerichtliche Fälle gegründet und hat in der Tat in einer Reihe von Fällen, wo auf andere Weise das Ricin nicht zu ermitteln war, den Nachweis der Anwesenheit dieses Giftes erbringen können. Es steht zu hoffen, daß die von mir gefundenen Tatsachen für den Nachweis von Saponinsubstanzen sich werden verwenden lassen. So werden z. B. weitere Versuche unseres Institutes mittels dieser Methode die Verankerung eingespritzter relativ ungiftiger Saponine in den wichtigeren Organen studieren. Daß tatsächlich sich Saponine im Organismus selbst eine Woche lang verankern und erst dann zur Ausscheidung kommen können, dafür erbringen die gleichzeitig hiermit verfaßten Arbeiten mehrerer Kommilitonen aus unserem Institute den Beweis.

6. Bei der großen Ähnlichkeit zwischen allen Saponinsubstanzen glaube ich nicht zu weit zu gehen, wenn ich annehme, daß die bei unseren fünf Saponinen kennengelernten Eigenschaften auch noch für viele weitere Stoffe derselben Gruppe Geltung haben. Für die Gruppe

der in Wasser unlöslichen Saponinsubstanzen ist sogar mit noch größerer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß sie mit Körperzellen feste, unlösliche Verbindungen eingehen, aus denen sie nur durch Einwirkung von Alkali, nicht aber von Säure freigemacht werden können.

7. Ob bei der Verankerung der Saponine an den Zellen das Cholesterin, das ja mit allen Saponinen sich zu einer ungiftigen Verbindung verbindet, eine Rolle spielt, fragt sich. Darüber werden weitere Versuche unseres Institutes hoffentlich Aufschluß geben.

Beiträge zur Kenntnis der Biochemie der Kieselsäure und Tonerde.

Von

M. Gonnermann.

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiolog. Chemie zu Rostock.)

(Eingegangen am 14. März 1918.)

In der Zeitschrift f. physiolog. Chemie Bd. 99, S. 255 bis 296 veröffentlichte ich eine Anzahl Untersuchungen über den Gehalt menschlicher und tierischer Organe an Kieselsäure und behielt mir weitere Mitteilungen darüber vor. Bei diesen Untersuchungen trat zuweilen die auffallende Erscheinung ein, daß in dem Filtrat von der Kieselsäure — eigentlich nur Salze der Alkalien enthaltend — beim Zusatz von Ammoniak ein größerer oder geringerer Niederschlag von Tonerde entstand. Bei mit Prof. Kobert darüber genommener Rücksprache fand auch dieser die Anwesenheit von Tonerde in inneren Organen sehr auffallend, so daß ich seinem Wunsche bereitwillig Folge leistete und in dieser Arbeit neben dem Gehalt an Kieselsäure auch die Gegenwart von Tonerde berücksichtigte, um, wenn genügende Mengen derselben wägbar wären, möglichst einen Teil dieser auffallenden Bestandteile in reinster Form darzustellen, d. h. falls auch nur Spuren von Eisenoxyd dem Niederschlag beigemengt waren, diese zu beseitigen, um eventuell Beweismaterial in Händen zu haben und die prachtvoll blaue Kobaltreaktion ausführen zu können. Es ist daher in der Tabelle auch der Gehalt der Substanzen an Tonerde berücksichtigt worden. Ferner ist die ausführliche Analyse eines Tonerdedarmsteines mitgeteilt, da eine solche in der Literatur bisher nicht verzeichnet ist.

Der gemischte Niederschlag von Eisenoxyd und Tonerde wurde nach gründlichem Auswaschen mit heißem destillierten Wasser auf gewogenem Filter, bis keine Chlorreaktion durch Silbernitrat mehr eintrat, bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet; das im Exsiccator erkaltete Filtrat wurde gewogen, das Gewicht von Tonerde und Eisenoxyd ermittelt und das Eisen durch Lösen mit heißer verdünnter Schwefelsäure ausgezogen, das Oxyd durch metallisches, chemisch reines Zink zu Ferrooxyd reduziert und durch gestellte Permanganatlösung wieder oxydiert als Ferrooxyd berechnet; dieses vom Gewicht des Gemisches abgezogen, ergab dann den Gehalt an Tonerde in den Organen. Wie verfahren wurde, falls Aluminiumphosphat (und Eisenphosphat) vorhanden war, wird weiter unten besprochen werden.

Die Lösung, die nun neben Eisen- und Tonerdesulfat auch noch Mangan enthalten konnte, wurde heiß durch überschüssiges Ammoniak gefällt, der Niederschlag auf dem Filter vollständig mit heißem Wasser ausgewaschen, bis keine Reaktion mit Bariumchlorid auf Schwefelsäure mehr eintrat und bis die abtropfende Flüssigkeit Methylrot nicht mehr gelb färbte. Dies ist die empfindlichste Reaktion auf Alkalien. Der gesammelte Niederschlag wurde nun in ein geeignetes Erlenmeyer-Kölbchen gespritzt und mehrmals mit 25%iger Kalilauge ausgekocht, um die Tonerde zu lösen; nach der Verdünnung und Filtration fällte ich durch Zusatz von Chlorammonium in der Siedehitze die Tonerde, wusch sie auf dem Filter bis zum Verschwinden der Chlorreaktion und Alkalität aus, trocknete sie bei 110° aus und wog sie. Das weiße Präparat reiner Tonerde wurde in kleinen Glasröhren aufbewahrt und diese mit dem Namen des Ursprungsmaterials bezeichnet.

Das Vorhandensein von Tonerde in tierischen Organen sowie in Pflanzenteilen ist von R. Schütze, „Über Tiercellulose“[1]) wohl zuerst nachgewiesen worden. Er fand in der Asche des Mantels der Ascidie Phallusia mammillaris 2,76% Kieselsäure und 9,52% Tonerde. Nach Kubly[2]) finden sich in der Asche der spanischen Fliege 14,9% Kieselsäure. Daß sich Tonerde in menschlichen Organen findet, ist von mir zuerst nachgewiesen worden. In der älteren und neueren Literatur, mit Ausnahme von Stoklasa und Pellets Angaben, findet sich hierüber nichts. Die Gegenwart der Tonerde in menschlichen Organen, wie oben angeführt ist, wurde in meiner ersten Arbeit über die Biologie der Kieselsäure in Hoppe-Seylers Zeitschrift Bd. 99, von mir zunächst nicht erwähnt, doch habe ich nachträglich den damaligen Befund als zweifellos festge-

---

[1]) Mitteilungen aus dem pharmaz. Institut Erlangen 2, 281, 1883.

[2]) Zeitschr. f. Chem. 1866, 477. Nach Pharm. Zeitschr. f. Rußland 4, 473.

stellt, wie auch die nunmehr erfolgten Angaben die Richtigkeit derselben zeigen.

Auch reine Kieselsäure aus Organen stellte ich mir nebenbei mit her, besonders aus Nieren und Leber von Menschen, Hund und Katze, die zunächst verarbeitet worden waren.

Die vom pathologischen Institut in dankenswerter Weise erhaltenen menschlichen Organe wurden, z. T. auch ohne entfettet zu werden, getrocknet, fein zerrieben und in Porzellantiegeln, die, wie in der ersten Veröffentlichung auseinandergesetzt, nur Bruchteile von Milligrammen Tonerde oder Kieselsäure abgeben, verbrannt, die schwer verbrennliche Kohle mit heißem Wasser vollständig ausgelaugt, um die Salze zu entfernen. Die Lösung derselben wurde eingedampft, die getrocknete Kohle für sich verbrannt, bis eine fast farblose — zumeist schwach rötliche — Asche hinterblieb, die Salze derselben hinzugefügt und bei 110° die Asche als solche festgestellt. Nach der allgemeinen analytischen Methode wurde schließlich die Kieselsäure abgeschieden, abfiltriert, vollständig ausgewaschen und durch Kochen mit Sodalösung gelöst, durch Säure als gelatinöse Flocken ausgeschieden, auf dem Filter ausgewaschen und somit als ein blendend weißes Pulver nach dem Trocknen und Zerreiben erhalten. Zur quantitativen Analyse wurde die Kieselsäure durch Schmelzen mit Ammoniumfluorid aus dem dabei eintretenden Verlust bestimmt.

Bei der chemischen Untersuchung eines Darmsteines einer Frau fand ich gleichfalls Tonerde. Zunächst war dieser Befund auffallend, doch lag die Vermutung nahe, daß die Verstorbene reichlich Brot genossen haben könnte, das tonreiche Kleie enthielt. Demzufolge wurde um Einsendung von solchem genossenen Brot gebeten. Gerade während dieser Zeit erschien nämlich eine Arbeit von Prof. J. Stoklasa: Das Brot der Zukunft[1]). In derselben veröffentlichte dieser eine Anzahl Analysen von Mehlen; von diesen enthält an Reinasche:

Weizenmehl	0,65%
Roggenmehl	0,62%
Gerstenmehl	1,11%
Hafermehl	1,23%,

dagegen:

Weizenkleie	7,64%
Roggenkleie	7,87%
Maiskleie	6,96%.

[1]) Jena 1917. Mit 7 Tafeln.

Das nach dem Finkler-Verfahren hergestellte Finalmehl, das noch die ganze Kleie enthält, gibt 9,16 % Reinasche, und in dieser befinden sich 1,13 % Aluminiumoxyd.

In K. Eulers „Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie" 1. Teil 1908, S. 210, heißt es: Aluminium findet sich nur zufällig, z. B. zu 1,8 bis 2,8 % in der Blätterasche von Rubus arcticus auf Alaunboden nach Bergstrand. Vereinzelt steht ein hoher Aluminiumgehalt von 25 % in der Asche von Symphorusblättern, die Aluminiumkonkretionen im Pallisadenparenchym absetzen. Nach Stoklasas wichtigen Untersuchungen des Finalmehles unterlag es schon kaum einem Zweifel, daß auch zu dem Brot der an Darmsteinen Verstorbenen kleiehaltiges Mehl verbacken worden war. In der Tat fand ich auch in dem einen von ihr genossenen Brote merklich tonerdehaltige Asche.

Auch Pellet und Fribourg[1]) haben die offene Frage, ob Tonerde in Pflanzen normalerweise vorkommt, an Zuckerrohr und Zuckerrüben geprüft. In 100 Teilen Asche fanden sie 30 bis 50 mg Tonerde und bestimmten sie nach folgender Methode von Camot:

„Die verdünnte salzsaure Lösung wird mit Ammoniak fast neutralisiert, dann werden 2,0 g Ammoniumphosphat und 15 ccm Eisessig zugefügt. Man kocht 15 Minuten, wobei sich Aluminiumphosphat frei von Eisen abscheidet. Es wird mit siedendem Wasser ausgewaschen und gewogen:

$$\frac{244,2}{1,0} = \frac{102,2\,(Al_2O_3)}{0,418}.$$

Nach dieser Methode, die das vorhandene Eisen vollständig ausschaltet, habe ich gleichfalls gearbeitet, wenn es darauf ankam, die Tonerde eisenfrei vom Niederschlag zu erhalten. Zunächst kommt natürlich die in Arbeit genommene Menge und Art der Substanz in Betracht, bei Mineralien, Holz- und Pflanzenaschen wird man auf einen höheren Tonerdegehalt schließen müssen als auf einen solchen aus menschlichen und tierischen Organen, auf denen meine Untersuchungen basierten. Mit Ausnahme von Psoriasisschuppen, die die bedeutende Menge von 22,97 % Tonerde neben 20,30 % Eisenoxyd in der Asche

---

[1]) Chem. Centralbl. **1905**, 2, 1187.

enthielten, wird in solcher Höhe Tonerde sich kaum wiederfinden. Jahn[1]) führt das Resultat chemischer Untersuchungen von Bährensprüng und Marchand an, die einen ungewöhnlichen Reichtum der Psoriasisschuppen an Aschenbestandteilen, darunter Eisen und Kieselsäure fanden. Leider fehlen analytische Angaben.

Die größte von mir bisher festgestellte absolute Menge waren 0,820 g aus dem von Schleimhaut befreiten Dünndarm eines entbluteten Hundes. Je nach der zu erwartenden Menge richten sich die Verhältnisse der Fällungsreagenzien, so daß ich bei Anwendung der Methode immer erst eine kleine Vorprobe durch Ammoniak anstellte und die Verhältnisse danach einrichtete, d. h. bei kleinen Mengen nur die Hälfte der Reagenzien verwendete.

Außer den Organen wurde auch Rindergalle auf Kieselsäure und Tonerde untersucht, und zwar eine von Merck, Darmstadt, bezogene eingedickte Galle (Fel tauri inspissatum einiger Pharmakopöen) sowie frische, vom Schlachthof bezogene Galle. Gorup Besanez gibt 1862 eine einzige ihm vorliegende Analyse nach Rose, „Methode der Ochsengalle“ an. Es wurden gefunden 0,36 % Kieselsäure, während Tonerde nicht angeführt ist unter den 11 Stoffen. Neuere Analysen waren mir nicht zugänglich. Fehlings Handwörterbuch führt auch nur die einzige aus Gorup an.

E. Röchelius[2]) hat im Allgemeinen Eppendorfer Krankenhaus von 1876 bis 1914 nur 2 Fälle von Speichelsteinen beobachtet und schreibt: Die zufällige Häufung mehrerer im letzten Jahr veranlaßte mich, sie hier mitzuteilen: 1. 1816, 2. 1902, 3. 1914, 4. 1916, 5. 1916, 6. 1916, 7. 1916, 8. 1917. Röchelius denkt bei einigen Fällen an Zusammenhang mit Gicht. „Im übrigen bestehen die Speichelsteine ihrer chemischen Zusammensetzung nach im wesentlichen aus Calciumphosphat, Calciumcarbonat, Spuren von Kali, Chlor, Magnesium, Eisen, selten Cholesterin, Phtyalin, Epithelien, Mucin, Bakterien. Sie

---

[1]) Über Ichthyosis. Inaugural-Dissertat. von Osk. Buer, Berlin 1873. (Aus dem Arch. f. Dermatol. **54**, 1900, 4, 317.)

[2]) Beiträge zur Speichelsteinkrankheit. Deutsche Zeitschr. f. Chir. **141**, Heft 3 u. 4, 263, 1917.

entstehen auf entzündlichem Wege. Die Entzündung liefert die Bakterien, Leukocyten, Epithelien, Mucin, Eiweißstoffe." Sollte auch die unter den angeführten Stoffen nicht vorhandene Tonerde doch in diesen Steinen aufzufinden gewesen sein, so wäre es von großem Interesse, in weiteren Fällen nach diesen zu suchen. Vielleicht lassen sich dann Rückschlüsse auf die Nahrung ziehen analog dem von mir gemachten Befunde von Tonerde in einem Darmstein und dem daraus geschlossenen und später erwiesenen Gehalte von Tonerde im Brote dieser Patientin.

Ich komme zur Analyse dieses von Prof. Grisson in Hamburg an unser Institut zur Untersuchung eingesandten Darmsteines. Die Literatur[1]) sagt über Vorkommen von Kieselsäure und Tonerde in Darmsteinen meines Wissen nichts. Der genannte Darmstein war bei der Operation apfelgroß gewesen. Er war jetzt zerfallen; neben einem Stück von der Größe eines Taubeneies kamen kleinere Bruchteile desselben mit zur Untersuchung. Der Ursprung des Steines, aus einzelnen durch Kotmassen verklebten Körnern bestehend, von dem ich ein Stück, das ein Gewicht von 11,911 g hatte, analysiert habe, war wohl zweifellos mit auf längeren Genuß einer Brotart zurückzuführen, von der die Analyse einen Gehalt an Tonerde (Al_2O_3 aus Sulfat oder Phosphat oder Alaun stammend) berechnet von:

0,356 % für Trockensubstanz des Brotes,
0,196 % für frische Brotkrume,
13,139 % für Brotasche

ergab. Dieses Brot war durch den Leiter des Krankenhauses vom Bäcker der betreffenden Patientin bezogen und gleichfalls dem Institute für Pharmakologie eingesandt. Die Patientin überstand die Operation gut, starb jedoch nach 3 Monaten an einer anderen Krankheit (Thrombose).

Zweifellos war in dem Brot Phosphorsäure an Kalk gebunden vorhanden, der möglicherweise als Phosphorit betrügerisch bereits dem Mehl zugesetzt war. Außerdem war wohl Alaun dem Backgut zugesetzt. Dieser Zusatz wird von Bäckern

---

[1]) Eulenburgs Realenzyklopädie, 4. Aufl., 3, 649, 1908. Nur in den letzten Jahren sind bei der Behandlung der Ruhr mit Bolus alba mehrmals Tonkonkretionen entstanden.

ja öfter angewandt, um das Brot backfähiger zu machen, wie zur Genüge aus der Aussage eines hiesigen Drogisten hervorgeht, der in wenigen Wochen 20 und mehr Kilo Alaun verkaufte.

Der Stein, der Kotfarbe hatte, wurde möglichst zerkleinert und im Soxhlet-Apparat durch Äther vom Fett befreit; der ätherische Verdampfungsrückstand betrug 0,307 g entsprechend 2,32 % des Steines. Das entfettete Pulver wog 14,604 g, wurde verascht, die kohlige Asche durch heißes Wasser ausgelaugt, nach dem Trocknen durch erneutes Glühen von der Kohle befreit, ausgelaugt, das Filtrat, die Salze enthaltend, mit dem ersten Filtrat vereinigt zur Trockne verdampft, der erhaltene Salzrückstand der Asche zugemischt und somit das Gesamtgewicht der Reinasche ermittelt. Beim Zerreiben des getrockneten kohligen Rückstandes war sehr auffällig, daß sich helle, kleine Teilchen erkennen ließen, die wie Sandkörner knirschten und schwer sich zu Pulver zerreiben ließen. Leider wurde versäumt, die Substanz mikroskopisch zu betrachten. Dies hätte vielleicht Aufschluß gegeben, welche Substanz dem Mehl zugemischt war.

Die Asche wurde dreimal mit konzentrierter reiner Salzsäure auf dem Wasserbad zur staubigen Trockne verdampft, dann mit verdünnter Salzsäure unter Zugabe von Salpetersäure, um möglicherweise vorhandenes Eisenphosphat in Lösung zu bringen, nach einstündigem Erhitzen mit heißem Wasser verdünnt, die Lösung filtriert, der ungelöste Rückstand getrocknet und auf Kieselsäure in der Weise untersucht, daß derselbe zunächst im Platintiegel geglüht, um kleine Kohleteilchen zu verbrennen, dann mit überschüssigem Fluorammonium vermischt, wieder bis zum Glühen erhitzt wurde, und aus dem Verlust des Fluorsiliciums der Wert an Kieselsäure berechnet.

In der Salzlösung ist dann zunächst nach Erhitzen durch Ammoniak die Tonerde gefällt, im Filtrat auf Kalk, Magnesia und Phosphorsäure geprüft worden. Bei der Fällung der Tonerde durch Ammoniak würde jedoch auch Aluminiumphosphat mit niedergeschlagen werden, dem wohl auch Kalk- und Magnesiumphosphat beigemischt sein könnten. Deshalb löste ich den ammoniakalischen und völlig ausgewaschenen Niederschlag in verdünnter Salpetersäure und fällte die Phosphorsäure durch molybdänsaures Ammonium in der Siedehitze völlig aus. Nach Erkalten und Filtration wurde das überschüssige Molybdän nach fast gänzlichem Abstumpfen der freien Salpetersäure und Ansäuern durch Salzsäure, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in der Wärme beseitigt, das klare Filtrat durch Auskochen von demselben befreit, die Tonerde nunmehr heiß durch Ammoniak gefällt, der Niederschlag vollständig ausgewaschen, nochmals in verdünnter Salzsäure gelöst, die verdünnte heiße Flüssigkeit unter Zugabe von viel Salmiak und vorsichtigem Zusatz von Ammoniak bis zur schwachen Alkalität aufgekocht, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden war. Die nun reine Tonerde wurde auf dem

Filter vollständig ausgewaschen und vorsichtig bei 110° bis zur Gewichtskonstanz ausgetrocknet.

Im ganzen ergab die Analyse folgendes:

1. Das Fett,

d. h. der in Äther lösliche Teil des Darmsteines, enthielt:

1. Skatol. Allerdings nur durch den Geruch nachgewiesen.

2. Koprosterin, d. h. eine in Essigsäureanhydrid lösliche, bei Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure sich sofort tiefgrün färbende Substanz.

3. Echte Fette, die Fettflecke machten, also Glyceride von Fettsäuren waren. Diese sind halbflüssig, werden verseift und aus den Seifen die freien Fettsäuren abgeschieden. Unter diesen befindet sich Ölsäure — nachgewiesen durch stark hämolytische Wirkung ihres Natriumsalzes und die grüne Färbung mit dem Ölsäurereagenz (chromsäurehaltiger Eisessig).

Dagegen:

4. Kein Phenol, Kresol usw., da weder die Eisenchloridreaktion noch die Millonreaktion eintrat.

2. Der vom Fett befreite Trockenrückstand:

A. Der wässerige Auszug der Kohle enthielt 0,070 g Salze gleich 0,5 % des Steines als Chloride und Sulfate.

B. Die kohlefreie Asche betrug 8,703 g gleich 58,370 % des Steines.

C. Die Salzlösung der kohlefreien Asche betrug 250 ccm; hiervon wurden

a) 100 ccm entnommen für den Nachweis von Kalk, Magnesia und Phosphorsäure, der Rest

b) für den Nachweis von Tonerde verwandt.

D. Der unlösliche Teil der Asche wurde nach dem Trocknen mit Fluorammonium im Platintiegel geschmolzen und aus der Verflüchtigung des Fluorsiliciums als Kieselsäure erkannt:

0,013 g gleich 0,840 % für den Stein,
0,013 „ „ 14,996 % „ die Asche.

In dem abgemessenen Teil, 100 ccm, der Lösung wurde nach Fällung durch Ammoniak im Filtrat durch Ammoniumoxalat Kalk, im Filtrat von diesem durch Natriumphosphat die Magnesia, durch Ammoniummolybdän die Phosphorsäure nachgewiesen.

Die restierenden 150 ccm der Salzlösung, die 8,784 g des Steines entsprechen, wurden durch Fällung mit Ammoniak zur Bestimmung der Tonerde benutzt und dieselbe nach der Methode von Fresenius nach Beseitigung der Phosphorsäure durch Ammoniummolybdat als reines Präparat durch Kochen des in Salzsäure wieder gelösten Niederschlages unter Zugabe von viel Salmiak und Ammoniak bis schwacher Alkalität wieder ausgeschieden, während Kalk- und Magnesiumverbindungen in Lösung blieben. Der Tonerdeniederschlag wurde so lange mit kochendem

Wasser ausgesüßt, bis er vollständig von alkalischen Erden befreit war. Beim Lösen einer geringen Menge des Niederschlages in verdünnter Salpetersäure bewirkte Ammoniummolybdän beim Erwärmen weder Färbung noch Trübung oder Niederschlag, so daß die Gegenwart von Phosphorsäure nunmehr völlig ausgeschlossen, der Niederschlag als reine Tonerde festgestellt war.

Filter	1,203 g
Filter + Al_2O_3	2,980 „
	1,277 g in 8,784 g entfetteten Steines,

d. i. 8,784 : 1,277 = 100 : x x = 14,534 %.

Nach diesem wohl einwandfreien analytischen Ergebnis ist anzunehmen, daß vielleicht durch den längeren Genuß einer Brotart, die in der von mir untersuchten Stichprobe eine übermäßige Menge Tonerde, d. h.

0,356 %	für	Trockensubstanz,
0,196 „	„	Brotkrume,
13,139 „	„	Asche

enthielt, sich der Darmstein gebildet hat, der zur Laparatomie und Entfernung eines Stückes des bereits brandig gewordenen Dünndarmes nötigte.

Zum Vergleich möge kurz angegeben werden, daß nach v. Bibra 100 Teile mit 75 Teilen Wasser 175 Teile Teig geben, aus dem 130 bis 150 Teile Brot erhalten werden. Nach demselben Autor enthält die Asche von

Roggenmehl	48,0 %	Phosphorsäure,	
Weizenmehl	49,0 „	„	
Roggenkleie	47,5 „	„	, 2 % Kieselsäure,
Weizenkleie	50,8 „	„	, 0,89 % „

Wird nun, wie jetzt gebräuchlich, mit dem Mehl auch die Kleie verbacken, ändert sich der Gehalt an Phosphorsäure im Brot nicht, wohl aber der Gehalt an Kieselsäure, weil die Mehle frei von solcher sind. Es würden also in der oben angeführten Durchschnittszahl an Brot — 140 Teile — in der Asche sich 2,0 % Kieselsäure finden können, wenn zur Bereitung von sog. Mischbrot gleiche Gewichtsteile Roggen- und Weizenmehl verbacken werden; ich fand jedoch in einem solchen Brot nur 0,773 % Kieselsäure, die aus dem Glühverlust mit Ammoniumfluorid berechnet ist.

Nach Koenig sind in der Trockensubstanz von

ungeschältem Roggen	1,87 %	Asche,
geschältem Roggen	1,77 „	„
Schälabgang des Roggens . . .	5,26 „	„
Mehl von geschältem Roggen . .	1,58 „	„
Mehlabgang des Roggens . . .	7,36 „	„
Roggenkleie	6,37 „	„
Roggenbrot nach Vorschrift . .	2,81 „	„
frischem Weizenbrot	1,40 „	„
feinerem Weizenbrot	0,88 „	„
gröberem Weizenbrot	1,27 „	„
Grahamhrot	1,52 „	„
frischem Roggenbrot	1,49 „	„
frischem Roggenbrot (München) .	2,20 „	„
Kommißbrot	1,57 „	„
Pumpernickel . . . . 1,09 bis	1,89 „	„
Kleienbrot (37 % Wasser) . . .	2,32 „	„
Weizenkleie	7,15 „	„
Roggenkleie	4,98 „	„
Haferkleie	8,30 „	„

Aus meinen Analysenresultaten von den beiden Brotproben aus Hamburg sowie von Roggenkleie aus Hamburg findet sich in diesen Objekten Tonerde. Nimmt man an, daß das jetzt zu Brot verbackene Mehl aus völlig vermahlenem Getreide hergestellt wird, so muß dieses auch die gesamte Kleie und die gesamte aus dieser stammenden Tonerde enthalten, die sich naturgemäß auch im Brot wiederfinden. Wenn, wie oben angeführt ist, aus 100 Teilen Mehl 140 Teile Brot erhalten werden, so müßte, wenn jetzt der dritte Teil des Mehles als Kleie gerechnet wird, auch der dritte Teil an Kleie als Norm im Brot angenommen werden, d. h. $0{,}098 : 3 = 0{,}030\,\%$, wie denn auch in dem zweiten Brot ein Gehalt von 0,0313 % analytisch festgestellt worden ist. Das Brot 1 hat dagegen eine Zumischung von Alaun erfahren und somit einen 10fachen Gehalt an Tonerde bekommen.

Auffällig ist, daß bei den vielen früheren Analysen von Organen menschlicher und tierischer Abstammung niemals Tonerde in den Aschen gefunden, vielmehr nicht aufgeführt ist, wie denn auf eine Anfrage von Kobert bei Prof. Neuberg,

ob demselben irgendeine Notiz über einen Gehalt an Tonerde in Organen bekannt sei, derselbe die Frage verneinte. Nach meinen Analysenresultaten möchte ich schließen, daß während der Kriegsperiode die Gegenwart von relativ viel Tonerde in menschlichen Organen aus der Nahrung, namentlich aus Backpulvern und Brot, hergeleitet werden kann. Auch die zunehmende Zahl der Stoffwechselerkrankungen in den inneren Kliniken und die Zunahme der Amenorrhoe in den Frauenkliniken erweckt den Verdacht, daß zu reichlicher Gehalt der Nahrung an Tonerde schädlich wirken kann, wenn er Monate und Jahre andauert. Unter allen Umständen habe ich festgestellt, daß jetzt Tonerde in den Organen von Menschen ein stetiger Analysenbestandteil ist.

Daß der Alaun sehr häufig zu Backzwecken benutzt wird, zeigen durch Dr. E. Koch angestellte Analysen von 12 Backpulverarten, die Tonerde enthalten. Diese wurden für gesundheitsschädlich vom Landesgesundheitsamt Dresden erklärt und sind in der Tat als verwerflich anzusprechen. Ich nenne beispielsweise die drei Backpulver:

1. Albusin für Torten, Crêmes, Gefrorenes,
2. Rahma für Backpulver, auch für Schlagsahne,
3. Dresdener Kunsteiweiß, als Eiweißersatz.

Die Preise waren natürlich auch so hoch angesetzt, daß sie als Wucherpreise dem Kriegswucheramt überwiesen wurden.

Durch meine Untersuchungen nicht nur menschlicher, sondern auch tierischer Organe glaube ich zuerst unzweifelhaft nachgewiesen zu haben, daß neben der Kieselsäure auch die Tonerde wenigstens in kleinen Mengen zu den konstanten Bestandteilen der Organe gehört. Die Menge wechselt allerdings ziemlich bedeutend von solcher, die nicht wägbar war, bis 0,2 und 3,8 % für Trockensubstanz der Organe und 2,2 bis 8,0 % für Asche. Dieser Aluminiumgehalt der Organe stammt wohl z. T. aus Nahrungsmitteln, wie Mehl, Kleie, Brot, die naturgemäß tonerdehaltige Aschen liefern. Aber auch eine arzneiliche Anreicherung des Organismus mit Tonerde kann heutzutage vorkommen. So kann z. B. durch das Mallebrein von Geh. Reg.-Rat Dr. Mallebrein und Dr. Wasmer Tonerde in den Organismus eingeschleppt werden, indem dieses Mittel,

d. h. chlorsaures Aluminium, äußerlich, innerlich und zu Injektionen als Prophylakticum bei Wundbehandlung und innerlich in Tropfen sowie zu Inhalationen bei Lungenkrankheiten empfohlen wird. Die Ruhrbehandlung mit Bolus alba und Verband von Wunden mit essigsaurer und schwefelsaurer Tonerde sind althergebracht. Es wäre also nicht zu verwundern, wenn jetzt auch von anderer Seite bei Untersuchungen von Organen in der Asche derselben Tonerde, z. T. sogar reichlich, gefunden wird. Meine Versuche, die die Anwesenheit von Tonerde in Organen festgestellt haben, beziehen sich übrigens nicht nur auf die allerletzte Zeit, sie gehen vielmehr bis ins Jahr 1915 zurück. Ich hoffe, daß mir die Priorität des Nachweises und und der Feststellung dieses Bestandteiles in menschlichen und tierischen innerlichen Organen nicht wird bestritten werden können.

Von den neuen Präparaten zog ich das Clauden in den Bereich meiner Untersuchungen in dieser Serie. Das Clauden des Prof. Fischl, Prag, aus dem Lungengewebe isoliert, zeichnet sich durch seine hohe blutgerinnende Kraft aus. Die wesentlichste Eigenschaft ist die Herabsetzung der normalen Blutgerinnungszeit um ein Mehrfaches; es ist jedoch mit dem Koagulen von Kocher-Fonio nicht identisch. Es wurde bereits bei größeren und kleineren chirurgischen Eingriffen, bei denen schwer zu stillende Parenchymblutungen auftraten (aus Leber, Nieren, Knochen, Hirngeweben, Tumoren) prompt gestillt. Nach meiner Arbeit über die Biologie der Kieselsäure lag es nahe, daß auch im Lungengewebe sowohl Kieselsäure wie Tonerde als stete Bestandteile enthalten sind. Daher habe ich auch die Asche des Clauden Fischls auf beide Substanzen untersucht. In der Tabelle S. 415 finden sich die Resultate unter Nr. 43 aufgeführt; beide Substanzen gehören somit zu den konstanten Bestandteilen des Claudens und daher wohl auch zu denen des Mutterorgans dieses Präparates, der Lunge.

Was das Gehirn des Menschen betrifft, so läßt sich das entfettete Material sehr schwer veraschen. Bei der Extraktion des gehärteten und getrockneten Materials durch Äther wurde ein Gemisch von Fett und fettartigen komplizierten Verbindungen erhalten, das beim Verdunsten der ätherischen Lösung als eine feste, harte Masse von Wachskonsistenz erhalten, die

in Capillarröhrchen und Paraffinölbad erst bei 152° flüssig wurde. Für den Aschengehalt gibt Schloßberger 1,46 % an; für den Ätherextrakt findet sich bei v. Bibra die Angabe auf Aschenprozente umgerechnet 5,27 %. Ebenso gibt v. Bibra Zahlen über die fettartigen Stoffe an: Cerebrin 20 bis 21 %, Cholesterin 33 % und 46 bis 50 % der übrigen fettartigen Stoffe. Daß sich aus meinen Analysen ein Gehalt an Kieselsäure und Tonerde ergab, darf nicht wundernehmen.

Auffallend ist das Auftreten der Kieselsäure und Tonerde in den Organen der Katze und des Hundes, die doch zwei absolute Fleischfresser sind und vegetabilische Nahrung nicht in der Weise aufnehmen, daß man auf einen Gehalt an diesen Stoffen schließen könnte. Die gefundene Menge an Tonerde war allerdings bei der Katze gering und wurde daher auch meist nicht dem Gewicht nach bestimmt, aber vorhanden ist sie sicher.

Es lag im Interesse der ganzen Arbeit, auch den Magen eines Menschen auf Kieselsäure und Tonerde zu untersuchen, weil beide Stoffe im Katzenmagen sich nicht nur nachweisen ließen, sondern weil der Gehalt an Kieselsäure sogar als ein bedeutender festgestellt werden konnte. Es wurden zwei menschliche Magen vollkommen von Fett, Pankreas, Speiseröhre befreit, klein zerschnitten und in Formalin zweimal eingelegt, um sie zu härten, dann in einem Tuch abgepreßt und hierbei ein Gewicht von 150 g festgestellt. Auf dem Dampfapparat wurden die Stückchen vollständig ausgetrocknet, so daß sich ein leicht herzustellendes Pulver erzielen ließ, das als Trockensubstanz 36 und 37 % betrug. Die weitere Verarbeitung erfolgte wie bei allen gleichen Versuchen; von einer Ätherextraktion wurde des geringen Fettgehaltes wegen abgesehen.

Ich lasse jetzt eine Tabelle folgen, die meine Ergebnisse übersichtlich wiedergibt. Was den Darm anlangt, so wurde mit stumpfem Messer die Schleimhaut und Submucosa abgeschabt und für sich analysiert. Ebenso wurde der übrige Teil, der aus Serosa, Bindegewebe und Muskulatur bestand, für sich verarbeitet.

Tabellarische Übersicht aller Ergebnisse der Untersuchungen auf Kieselsäure und Tonerde.

Laufende Nr.	Untersuchungsmaterial	Entstammt von	Trockensubstanz fettfrei	Asche der Trockensubstanz	Kieselsäure der Trockensubstanz		Kieselsäure der Asche	Tonerde der Trokkensubstanz	Tonerde der Asche
			g	%	g	%	%	%	%
1.	Schleimhaut der oberen Hälfte des Dünndarms	Katze	2,0	5,10	0,018	0,900	**17,647**	vorhanden	
2.	Schleimhaut der unteren Hälfte des Dünndarms und des Dickdarms	Katze	1,65	6,545	0,015	0,909	**13,888**	vorhanden, und zwar ½ mehr als in der oberen Hälfte	
3.	Schleimhautfreie obere Hälfte des Dünndarms	Katze	7,25	2,52	0,020	0,276	**10,580**	vorhanden	
4.	Schleimhautfreier Dickdarm und untere Dünndarmhälfte	Katze	7,80	2,244	0,021	0,269	**12,000**	vorhanden	
5.	Schleimhaut der oberen Hälfte des Dünndarms	entbluteter Hund	4,60	5,174	0,013	0,283	**5,462**	0,718	**19,285**
6.	Schleimhaut der unteren Hälfte des Dünndarms	entbluteter Hund	2,20	2,20	0,007	0,318	**14,58**	vorhanden	
7.	Schleimhautfreie obere Hälfte des Dünndarms	entbluteter Hund	8,6	18,10	0,012	0,140	**0,770**	0,593	**25,38**
8.	Schleimhautfreie untere Dünndarmhälfte	entbluteter Hund	5,0	10,08	0,015	0,296	**2,978**	0,820	
9.	Schleimhaut des ganzen Dünndarms	Katze	3,0	5,334	0,010	0,334	**6,25**	vorhanden	
10.	Schleimhautfreier ganzer Dünndarm	Katze	12,00	1,517	0,021	0,175	**1,154**	vorhanden	
11.	Ganzer Dickdarm mit seiner Schleimhaut	Katze	7,50	3,907	1,024	0,040	**1,030**	1,640	**41,98**
12.	Ganzer Magen mit Schleimhaut	Katze	4,0	4,25	1,067	6,675		vorhanden	
13.	Ganzer Magen mit Schleimhaut	Katze	3,07	3,8	0,020	0,541	**14,286**	vorhanden	
14.	Ganzer Magen mit Schleimhaut	Mensch a	37,0	0,940	0,020	0,591	**5,780**	0,317	**23,121**
		Mensch b	36,0	0,936	0,053	0,145	**15,430**	0,131	**13,947**
15.	Leber, ohne Galle	Katze	3,6	2,534	0,010	0,278	**11,110**	2,23	
16.	Leber (185 g frisch)	entblut. Hund	35,0	3,114	0,020	0,060	**1,835**	0,280	**8,992**
17.	Leber	64 jähr. Mann	36,0	2,73	0,090	0,250	**9,158**	0,931	**34,08**
18.	Leber	mittelgr. Frau	65,0 [1]	4,574	0,094	0,145	**3,163**	0,620 [2]	**13,555**
19.	Leber (150 g frisch)	alter Mann	30,0	3,16	0,091	0,303	**9,610**	0,968	**30,432**
20.	Leber (100 g frisch)	Katze	22,6	2,140	0,022	0,100	**4,015**	0,705	**29,245**
21.	Nieren	Katze	20,7	3,676	0,027	0,131	**3,548**	0,290	
22.	Nieren	Hund	6,0	3,400	0,005	0,100	**2,941**	0,620	**2,882**

[1]) Diese Trockensubstanzbestimmung bezieht sich ausnahmsweise auf nicht entfettete Substanz.

[2]) Neben Tonerde war hier ausnahmsweise auch Kupfer vorhanden.

(Fortsetzung der tabellarischen Übersicht.)

Laufende Nr.	Untersuchungsmaterial	Entstammt von	Trockensubstanz fettfrei	Asche der Trockensubstanz	Kieselsäure der Trockensubstanz		Kieselsäure der Asche	Tonerde der Trokkensubstanz	Tonerde der Asche
			g	%	g	%	%	%	%
23.	Nieren	64 jähr. Mann	16,5	15,497	0,034	2,068	**1,329**	0,533	**3,441**
24.	Herz	ältere Frau	12,0	2,667	0,027	0,257	**8,710**	2,181	**75,42**
25.	Gehirn (900 g frisch)	älterer Mann	90,0	2,184	0,050	0,056	**2,587**	0,533	**2,488**
26.	Hoden (175 g frisch)	Erwachsener	39,0	1,00	0,010	0,500	**3,322**	0,220	**22,00**
27.	Milchdrüse	Kaninchen	3,5	3,714	0,008	0,229	**6,152**	0,572	**15,37**
28.	Epidermisschuppen	Mann mit Psoriasis	20,0	15,51	0,930	0,650	**30,642**	3,485	**22,97**
29.	Epidermisschuppen	Mann mit Ichthyosis	35,0	2,251	0,260	0,740	**33,010**	0,303	**13,452**
30.	Weißes Haar	alter Mann	9,0	0,267	0,024	0,267	**29,633**	vorhanden	
31.	Graues Haar	alter Mann	12,0	0,625	0,013	0,110	**17,333**	vorhanden	
32.	Goldblondes Haar	Knabe	15,0	0,957	0,024	0,160	**16,902**	vorhanden	
33.	Blutserum, getrocknetes, der Firma Witte	Pferd	50,0	5,741	0,189	0,378	**3,292**	0,082	**0,714**
34.	Blutserum, frisches, negatives, 220 ccm	Mensch	18,5	5,157	0,021	0,114	**2,205**	vorhanden	
35.	Fel depuratum, siccum	Schwein	20,0	6,20	0,031	0,155	**1,70**	0,495	**7,823**
36.	Fel inspissatum	Rind	40,0	8,805	0,057	0,142	**1,610**	0,208	**2,348**
37.	Frische Galle, 200 ccm	Rind	20,0	23,90	0,011	0,055	**0,230**	0,601	**2,551**
38.	Frische Galle, 450 ccm	Mensch	33,0	4,587	0,030	0,0702	**0,655**	0,500	**3,577**
39.	Dünndarmstein	Frau aus Hamburg	14,604	58,370	0,013	0,846	**14,996**	8,78	**14,534**
40.	Chitin, gereinigtes	Krebsschalen	25,0	3,484	0,007	0,028	**0,804**	2,048	**65,672**
41.	Chitin, ganz reines	Krebsschalen	15,0	3,10	0,060	0,400	**12,903**	0,374	**11,913**
42.	Lapides cancrorum	Astacus fluviat.	13,00	79,30	0,039	0,300	**0,383**	7,960	**10,03**
43.	Clauden	Luitpoldwerke Münch.	2,0	9,5	0,012	0,60	**6,316**	0,550	**5,79**
44.	Roggenkleie	Rostock	15,0	3,00	0,014	0,093	**3,111**	0,075	**2,50**
45.	Futterkleie	Rumänien	15,0	5,60	0,050	0,334	**5,913**	0,120	**2,148**
46.	Brot aus Greiz	Prof. Ludwig	135,3	1,410	0,086	0,065	**3,703**	0,115	**6,68**
47.	Brot aus Hamburg	Prof. Freund	160,0	2,540	0,060	0,375	**1,479**	0,058	**2,192**
48.	Brot aus Hamburg	Bäcker Kloß	110,0	1,245	0,023	0,021	**0,904**	0,057	**2,510**
49.	Brot aus Hamburg	Bäcker Busch	110,0	1,488	0,023	0,021	**0,773**	0,356	**13,139**
50.	Schilfrohr, Phragmites communis, Blätter	Rostock	30,0	12,73	2,920	0,970	**76,44**	0,743	**5,838**
51.	Schilfrohr, Halme	Rostock	50,0	8,20	3,094	6,188	**75,464**	0,280	**3,415**

Mikrochemische Stickstoffbestimmung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 15. März 1918.)

Aus den zwei Publikationen von Schollema und Hitterschy[1]) ersehe ich, daß ich leider meine Beschreibung der Mikro-Kjeldahlmethode nicht so klar ausgedrückt habe, daß Mißverständnisse nicht möglich sind. Ich benutze also die Gelegenheit hier, die Mißverständnisse zu berichtigen und werde außerdem einige fehlerhafte Bemerkungen der Verfasser korrigieren. Schollema und Hitterschy finden zuerst, daß meine Destillationsvorrichtungen ihre Mängel besitzen, indem festes Alkali überdestilliert, was sie dadurch beweisen wollen, daß in Blindversuchen das Destillat alkalisch reagiert. Da man aber nicht vollkommen NH_3-freie Reagenzien bekommen kann, muß immer das Destillat alkalisch reagieren, aus welchem Grunde ich ausdrücklich eine Korrektur für diesen Betrag vorgeschrieben habe. Daß aber festes Alkali überdestillieren soll, ist ganz unrichtig. Im Kjeldahlkolben hat man eine mindestens $10^0/_0$ige Alkalilösung. Spritzt $^1/_{1000}$ ccm von dieser Lösung über, entspricht die Quantität 0,1 mg N. Schollema und Hitterschy finden nun eine mit 0,008 mg N äquivalente Alkalimenge. Wie kann man dann von einem feinen Nebel von Alkali sprechen!

Ich habe auch nicht, wie die Verfasser glauben, bemerkt, daß ein zu langes Destillieren aus diesem Grunde von Nachteil ist. Wenn ich eine Kochzeit von 2 Minuten vorgeschrieben habe, ist dies dadurch motiviert, daß man im Laufe dieser Zeit alles Ammoniak überdestillieren kann, wenn man recht intensiv

[1]) Diese Zeitschr. **84**, 354 und 371, 1917.

kocht. Kocht man aber wenig stark, fordert die Destillation verhältnismäßig viel längere Zeit, und es ist sogar schwer zu beurteilen, wann die Destillation beendet ist. Auch ist das große Volum Destillat unzweckmäßig für die folgende jodometrische Bestimmung. Aus diesem Grunde habe ich in meiner letzten Abhandlung über die Mikro-N-Bestimmung durch Verwendung von Spitzgläsern das Flüssigkeitsvolum noch mehr beschränkt.

Weiter beruht es auf einem Mißverständnis, wenn die Verfasser glauben, daß nach jeder Destillation der Apparat ausgedampft werden muß. Nur einmal, und zwar vor der ersten Destillation, ist dies notwendig.

Die Vorteile der indirekten Destillation sind eben das schnelle Überdestillieren des Ammoniaks und das regelmäßige Kochen. Weiter riskiert man nicht, daß der Kolben trocken geht. Die vorgeschlagenen Änderungen der Verfasser sind deswegen nach meiner Ansicht keine Verbesserungen, sondern eher das Entgegengesetzte!

Wenn die Verfasser mit meiner Apparatur größere Blindwerte und etwas größere Unterschiede zwischen den Einzelbestimmungen erhalten haben, ist die Ursache hierfür augenscheinlich, daß sie 5 Minuten destillieren und das größere Flüssigkeitsvolum bekommen. Bei der direkten Destillation ist eben das Volumen des Destillats bedeutend geringer.

Daß man mit meiner Methodik tatsächlich ganz zufriedenstellende Resultate erhält, wenn die Vorschriften befolgt werden, haben schon recht viele Verfasser gefunden. Folgende Versuchsserie, eine Übungsaufgabe von meinem Schüler Dr. Wolf, kann auch als Beleg dienen.

Gefunden mg N	Berechnet mg N	Differenz mg N
0,0651	0,0630	+ 0,0021
0,0679	0,0630	+ 0,0049
0,0623	0,0630	+ 0,0007
0,1561	0,1575	— 0,0014
0,1540	0,1575	— 0,0035
0,1533	0,1575	— 0,0042
0,0917	0,0945	— 0,0028
0,0945	0,0945	± 0
0,0938	0,0945	— 0,0007

Die Versuche sind mit einer Salmiaklösung angestellt worden. Salmiak ist als Versuchsobjekt besonders wertvoll, da man durch die Bestimmungen auch zu beurteilen vermag, inwieweit die Lösungen den richtigen Titer besitzen, und ob die Korrektur für den Blindverbrauch an Säure zutrifft.

Schollema und Hitterschy folgern in ihrer zweiten Abhandlung, „daß die Annahme nicht richtig ist, den Reststickstoff als identisch mit Nicht-Eiweißstickstoff anzusehen; es gilt dies insbesondere von dem Reststickstoff nach I. Bang“. Diese Folgerung ist auf der experimentellen Grundlage gewonnen, die Versuche mit Wittepepton gegeben haben. Hier schlägt Phosphormolybdänsäure mehr nieder als Metaphosphorsäure oder Trichloressigsäure. Wenn die Verfasser aber glauben, daß es sich zum Teil um freie Aminosäuren handelt, so ist ihnen unbekannt, daß Wittepepton ein pepsisch digeriertes Fibrin darstellt. Und bei der Pepsindigestion werden bekanntlich keine Aminosäuren gebildet. Wenn aber Phosphormolybdänsäure mehr von den Peptiden und Albumosen als von den übrigen Fällungsmitteln niederschlägt, ist dies selbstverständlich als ein Vorteil anzusehen. Auch diese sind ja doch als Eiweiß zu betrachten. Und die Verfasser haben nicht den geringsten Beweis für ihre Folgerung geliefert, daß „ohne Zweifel noch andere Stickstoffverbindungen“ von der Phosphormolybdänsäure mit niedergeschlagen werden.

Tatsächlich bewirkt die Phosphormolybdänsäure für das Blut — und eben für Blut ist die Methode ausgearbeitet worden — eine exakte Trennung des Reststickstoffes von dem Eiweiß. Hierüber geben folgende Versuche von meiner Schülerin phil. mag. Wendel einen überzeugenden Beweis. Durch Serienversuche wurde die optimale H-Ionenkonzentration für Hitzekoagulation von Sera ermittelt, wobei 10 ccm Serum mit Mischungen von $^1/_1$ Essigsäure und $^1/_1$ Natriumacetat und Wasser nach Sörensen $^1/_2$ Stunde im Wasserbade erhitzt wurden. Nach Ergänzung auf 100 ccm wurde filtriert und in einem aliquoten Teil des Filtrates (50 ccm) der Reststickstoff sowie nicht koagulabler Eiweiß-N bestimmt. Außerdem wurde von mir der Reststickstoff nach der Mikromethode ermittelt. In einigen Versuchen war zwar der Unterschied zwischen beiden Methoden recht groß, z. B. nach Fleischfütterung. Dies Verhältnis ist vorläufig

zweideutig. Es kann z. B. bedeuten, daß Albumosen ins Blut übergegangen sind (die Untersuchungen hierüber werden hier weitergeführt). Oder es ist auch denkbar, daß die Koagulation eine unvollständige gewesen ist. Die optimale H-Ionenkonzentration für Serumalbumin und Serumglobulin, sowie Hämoglobin ist nicht absolut identisch. Was aber von prinzipieller Wichtigkeit ist, ist die Tatsache, konstatieren zu können, daß in vielen Versuchen die Werte für Rest-N nach beiden Methoden gut übereinstimmen. Dies bedeutet nämlich, daß nur Eiweiß von der Phosphormolybdänsäure und alles Eiweiß durch die Hitzekoagulation niedergeschlagen wird, wie die Versuche zeigen.

Tabelle.

Nr.	Rest-N nach der Makromethode mg	Rest-N nach der Mikromethode mg
1	36,4	32,0
2	43,6	37,0
3	36,4	30,0
4	39,2	37,0
5	56,0	52,0
6	90,2	89,0

Die Werte sind auf 100 ccm Serum berechnet.

Nach dem Angeführten ist ersichtlich, daß die Phosphormolybdänsäure zur Trennung des Reststickstoffes vom Eiweiß vorzüglich geeignet ist. Und ich kann nach eingehenden Studien über diese Verhältnisse hinzufügen: Die Phosphormolybdänsäure läßt sich nicht durch die übrigen gewöhnlichen Fällungsmittel, wie Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Sublimat, Uransalze u. a., ersetzen.

Über das Verhalten von Ergänzungsnährstoffen II. Über spezifisch antidiabetische Stoffe.

Von

H. Boruttau in Berlin.

(Eingegangen am 18 März 1918.)

I.

Ich habe im Jahre 1894 nachgewiesen[1]), daß der frische Herzmuskel des Hundes ebenso reich an Glykogen ist wie dessen Skelettmuskulatur, daß aber das Glykogen nach dem Tode aus dem Herzen schnell verschwindet. Diese Tatsache ist durch Jensen[2]) und durch Camis bestätigt worden. Dieser Forscher hat ferner gefunden, daß beim überlebend arbeitenden Herzen des Fleischfressers (Katze, Hund und Fuchs) der Glykogenverlust im gleichen Zeitraume viel bedeutender ist als beim pflanzenfressenden Kaninchen[3]). Dafür fand er den Verbrauch an Traubenzucker aus der zur Speisung benutzten zuckerhaltigen Lockeschen Lösung beim Kaninchenherzen größer als bei den Herzen der Fleischfresser. Ich habe im Jahre 1909 in zusammen mit H. Schuhmann angestellten Versuchen die Angaben von Camis hinsichtlich des Glykogens bestätigt gefunden[4]). Wir fanden damals auch, daß der Glykogenverlust nach dem Tode bei gleichlangem Liegenlassen beim Kaninchenherzen weit geringer ist als beim Fleischfresser. Wir konnten beide Verhältniszahlen, sowohl diejenigen des Glykogenverlustes

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**, 513, 1894.

[2]) Ebenda, **35**, 514, 524, 1902.

[3]) Zeitschr. f. allgem. Physiol. **8**, 371, 1908.

[4]) Centralbl. f. Physiol. **24**, 718 (Berl. physiol. Ges.) und 819 (Wiener Physiologenkongreß) kurz vorläufig mitgeteilt.

nach dem Tode, als auch denjenigen des Glykogenverlustes bei der Arbeit im überlebenden Zustande beim Herzen von Kaninchen wesentlich steigern, wenn wir ihren Stoffwechsel demjenigen des Fleischfressers dadurch anzunähern suchten, daß wir sie einige Zeit hungern ließen und während dieser Zeit ihnen subcutane Injektionen von Zuckerlösung machten, um verbrauchtes Kohlenhydrat zu ersetzen.

Ich stelle in Tabelle I und II die aus längeren Versuchsreihen gewonnenen Mittelzahlen zusammen, unter Heranziehung einiger Zahlen von Jensen und von Camis zur Vervollständigung der Übersicht. Ich bemerke noch, daß die Glykogenbestimmung überall nach Pflüger-Allihn vorgenommen wurde, und daß die Durchströmung im Apparat von Brodie und Cullis erfolgte.

Die vorstehenden Zahlen, miteinander verglichen, sind m. E. so schlagend, daß die Beziehung des Glykogenschwundes zur Funktion, die ja für den Skelettmuskel seit den Untersuchungen von Cl. Bernard, Brücke und Weiß, Molinari, Manché Külz und Aldehoff usw. feststeht, auch für den Herzmuskel kaum wird geleugnet werden können: mag man den postmortalen Glykogenschwund auch als reine „Enzymwirkung“ auffassen, so bildet sie doch offenbar das Analogon zu dem Glykogenverbrauch im Leben, der den Verbrauch eines Reserve-

Tabelle I.

Glykogenverlust des Herzmuskels beim Liegen.
(Zimmertemperatur.)

	Glykogen in Gewichtsprozenten	
1. Hundeherzen.		
Mittlerer Gehalt frisch	0,53 %	(Boruttau 1894)
[„ „ „	0,52 %	(Jensen)]
„ „ nach 24 stünd. Liegen .	0,13 %	(Boruttau 1894)
[„ „ „ „ „ .	0	(Jensen)]
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	75 %	(Boruttau)
[„ „ „ „ „	100 %	(Jensen)]
2. Katzenherzen.		
Mittlerer Gehalt frisch	0,60 %	
„ „ nach 24 stünd. Liegen .	0,06 %	
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	90 %	

	Glykogen in Gewichtsprozenten
3. Kaninchenherzen.	
Mittlerer Gehalt frisch	0,24 %
„ „ nach 8 stünd. Liegen .	0,15 %
„ „ „ 24 „ „ .	0,13 %
„ „ „ 72 „ „ .	0,11 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt in 24 Stunden 46 %.	
4. Kaninchenherzen von Hungertieren mit Zuckerinjektion.	
Mittlerer Gehalt frisch	0,33 %
„ „ nach 24 stünd. Liegen .	0,11 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt in 24 Stunden 67 %.	

Tabelle II.

Glykogenverlust des Herzmuskels durch 2stündige Arbeit in ausgeschnittenem Zustande bei Speisung mit traubenzuckerhaltiger Lockescher Lösung.

	Glykogen in Gewichtsprozenten
1. Katzenherzen (Camis).	
Mittlerer Glykogengehalt frisch	0,34 %
„ „ gearbeitet . .	0,116 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	66 %.
2. Fuchsherzen (Camis).	
Mittlerer Glykogengehalt frisch	0,23 %
„ „ gearbeitet . .	0,055 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	75 %.
3. Katzenherzen (Boruttau und Schuhmann).	
Mittlerer Glykogengehalt frisch	0,60 %
„ „ gearbeitet . .	0,052 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	91 %.
4. Kaninchenherzen (Camis).	
Mittlerer Glykogengehalt frisch	0,49 %
„ „ gearbeitet . .	0,40 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	18 %.
5. Kaninchenherzen (Boruttau und Schuhmann).	
Mittlerer Glykogengehalt frisch	0,41 %
„ „ gearbeitet . .	0,36 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	12,5 %.
6. Kaninchenherzen von Hungertieren mit Zuckerinjektion (Boruttau und Schuhmann).	
Mittlerer Glykogengehalt frisch	0,33 %
„ „ gearbeitet . .	0,22 %
Mittlerer Verlust vom ursprüngl. Gehalt	33 %.

stoffes darstellt, der angegriffen wird, wenn die durch den Blutstrom ständig zugeführten und im Arbeitsstoffwechsel des Muskels (Bildung von Hexosephosphorsäure usw.) umzusetzenden Kohlenhydrate nicht dem zeitweise erhöhten Bedarf genügen: zu der von mir vor 24 Jahren geäußerten Vorstellung, daß der schnelle postmortale Glykogenschwund im Hundeherzen mit der fortwährenden rhythmischen Tätigkeit zusammenhängt, bei der in jeder Diastole die Erholung von der systolischen Arbeit stattfindet, wäre nunmehr nur hinzuzufügen, daß er beim Fleischfresserherzen offenbar das Korrelat zu der auch im Leben stärkeren Angreifbarkeit des Glykogens bildet, die deshalb notwendig ist, weil aus der kohlenhydratärmeren Nahrung dem Herzen bei erhöhter Inanspruchnahme nicht genügend Blutzucker zur Verfügung stehen würde; letzteres ist dagegen bei dem Pflanzenfresserherzen aus der kohlenhydratreicheren Nahrung der Fall[1]). Jedenfalls glaube ich, trotzdem Rohde[2]) in seinen schönen und technisch vollkommenen Versuchen geglaubt hat, aus dem respiratorischen Quotienten schließen zu können, daß das überlebende Katzenherz als Reservestoff Eiweiß und Fett, nicht aber Glykogen verbraucht, daß letzteres bei der erhöhten Inanspruchnahme des Herzens im Kreislauf beim lebenden Tier, und zwar beim Fleischfresser besonders leicht der Fall sein kann[3]).

Nun ist bekanntlich die Leber bei Menschen mit schwerem Diabetes arm an Glykogen. Dasselbe gilt für die Leber und die Skelettmuskulatur pankreasdiabetischer Hunde, wie ich aus mehrfacher eigener Erfahrung berichten kann. Den Herzmuskel fand ich in diesen Fällen glykogenfrei; freilich hatte ich ihn niemals sofort nach dem Tode untersucht, was ich (unter Opferung des betreffenden Tieres nur zu diesem Zwecke) bei Gelegenheit nachzuholen gedenke. Ob man nun zunächst an-

---

[1]) Auf mobilisiertes Kohlenhydrat aus der Reserve des Leberglykogens kann der Muskel doch offenbar auch nicht dauernd rechnen; wir wissen längst, daß dieses eher erschöpft wird als das Glykogen wenigstens des Skelettmuskels!

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 68, 181, 1910.

[3]) Ich hoffe, gelegentlich der Ursache des Widerspruches zwischen Rohdes Ergebnissen und den meinigen näher auf den Grund gehen zu können.

nimmt, daß das Hormon des Pankreas die Mobilisation der Reservekohlenhydrate hemmt, oder ihre Bildung durch Begünstigung der Polymerisationsvorgänge in Leber und Muskel befördert, oder beides gleichzeitig, so liegt es jedenfalls nahe, experimentell zu untersuchen, inwiefern Fehlen von Pankreashormon die Bildung von Glykogen in der überlebenden Leber hindert, seinen Verbrauch im überlebenden Herzmuskel begünstigt, — und künstlicher Zusatz von Pankreashormon umgekehrt die Bildung von Glykogen in der überlebenden Leber befördert, seinen Verbrauch im überlebenden Herzmuskel herabmindert. Das erstere hat im Jahre 1910 de Meyer unternommen, indem er Leberlappen von normalen und pankreaslosen Hunden künstlich durchblutete und den Glykogenverlust innerhalb bestimmter Zeiträume an Probestücken bestimmte. Er fand, daß bei Zusatz von Pankreasextrakten dieser Verlust bedeutend herabgemindert, ja selbst rechnerisch nachweisbare Glykogenbildung hervorgerufen wurde[1]). Ich habe seinerzeit den zweiten Weg beschritten[2]), indem ich zur zuckerhaltigen Lockeschen Lösung, mit der ich die überlebenden Katzenherzen speiste, durch Tonkerzen filtrierte Extrakte der den eben getöteten Tieren entnommenen Bauchspeicheldrüsen zusetzte, aus denen auch die betreffenden Herzen stammten. In einer größeren Reihe derartiger Versuche wurden folgende Mittelwerte erhalten:

Katzenherzen frisch, im Mittel . . . . . . 0,60 % Glykogen
„ gearbeitet 2 Stunden unter Zusatz des Extrakts zur Speiseflüssigkeit 0,106 % „
Mittlerer Verlust des ursprüngl. Gehalts durch die Arbeit 82 %.

Diese 82 % sind entschieden weniger als die 91 % Verlust, die laut Tabelle II, Nr. 3 ohne Zusatz von Pankreasextrakt gefunden worden waren, wenn auch die Differenz nicht groß, ja sogar kleiner als der Unterschied ist, der für den analogen Verlust zwischen unseren und Camis' Versuchen (Tabelle II Nr. 1) besteht.

Andererseits hat Rohde eine teilweise Erhöhung des Umsatzes im überlebenden Katzenherzen durch Zusatz von Pankreas-

---

1) Travaux des Instituts Solvay, 10, Heft 2, 1910.
2) A. a. O.

extrakten gefunden, und Knowlton und Starling hatten 1912[1]) gefunden, daß im Gegensatz zur Norm die überlebend gespeisten Herzen pankreasdiabetischer Hunde nur minimale Mengen Zucker verbrauchten, daß aber dieser Zuckerverbrauch durch Speisung mit dem Blute normaler Tiere oder Zusatz von Pankreasextrakt zur Speiseflüssigkeit merklich gehoben werde. Diese Angaben waren von Maclean und Smedley[2]) bestätigt worden, wohingegen Macleod und Pearce die Herabsetzung des Zuckerverbrauchs nach der Pankreasexstirpation für die überlebend gespeiste Skelettmuskulatur des Hundes nicht bestätigen konnten[3]). Bald darauf haben auch Starling und Patterson[4]) im Gegensatz zu der früheren Angabe von Knowlton und Starling einen Unterschied im Zuckerverbrauch des überlebenden Herzlungenpräparates und anderer Organe zwischen normalen und diabetischen Tieren nicht finden können; nur durch Adrenalin wurde der Zuckerverbrauch vorübergehend erhöht. Rona und Wilenko[5]) haben diese Widersprüche darauf zurückgeführt, daß nach ihren Erfahrungen der Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens aus der Speiseflüssigkeit in höchstem Maße von der Reaktion — Wasserstoffionenkonzentration — derselben abhängt, die von den englischen Autoren nicht genügend berücksichtigt worden war. Nach Erfahrungen, die ich seitdem gesammelt habe, ist der Glykogenschwund durchaus nicht in merklichem Maße von solchen Unterschieden der Wasserstoffionenkonzentration abhängig, wie sie durch die Zusammensetzung der zur Speisung benutzten Salzlösungen nach den verschiedenen Rezepten (Ringer, Locke, Tyrode), sowie durch Zusatz der Extrakte bedingt wird, so daß ich berechtigt bin anzunehmen, daß die hemmende Wirkung der Pankreasextrakte auf den Glykogenschwund des überlebend arbeitenden Fleischfresserherzens Tatsache ist.

II.

In der Zeit, als ich die besprochenen Versuche anstellte, wurde von den inneren Klinikern die Wirkungsweise der

[1]) Centralbl. f. Physiol. **26**, 169, 1912.
[2]) Journ. of Physiol. **45**, 470, 1913.
[3]) Americ. Journ. of Physiol. **32**, 184, 1913.
[4]) Journ. of Physiol. **47**, 137, 1914.
[5]) Diese Zeitschr. **59**, 173, 1914.

v. Noordenschen Haferkur beim Diabetes lebhaft diskutiert[1]), und es kam damals auch die Behandlung des Diabetes mit Hefepräparaten auf, meist wohl von unkritischen Gesichtspunkten ausgehend, indem das glykolytische Vermögen der Hefe für ein herabgesetztes glykolytisches Vermögen der Organe des Diabetikers eintreten sollte, wobei man gar nicht bedachte, daß ja die glykolytische Wirkung der verabreichten Hefe sich auf den Darm beschränkt. Nach den Erfahrungen mit Pankreasextrakten, deren praktische Anwendung auf die Therapie vielfach versucht (Vahlen, G. Zülzer, unveröffentlichte Versuche von mir), auch in ihren Grundlagen bestritten worden (E. Leschke), jedenfalls aber längst nicht zum Abschluß gelangt ist, war aber daran zu denken, daß im Hafer und in der Hefe Stoffe vorhanden und vom Darm in die Säfte unverändert resorbiert werden könnten, die einen das Reservekohlenhydrat vor pathologischem Schwunde schützenden Einfluß ausüben. Ich habe deswegen in meinen damaligen Versuchen am überlebend gespeisten Herzen auch Haferextrakte und Hefepreßsäfte zur Speisungsflüssigkeit zugesetzt. Ich fand im Mittel mehrerer Versuchsreihen bei

Katzenherzen, die gearbeitet hatten
unter Zusatz von Hefepräparaten einen
Glykogengehalt von . . . . 0,125 %,
also gegenüber dem Frischgehalt . . . 0,6 %
einen Arbeitsverlust von . . . . 79 %
und bei Katzenherzen, die gearbeitet hatten
unter Zusatz von Haferextrakten einen
Glykogengehalt von . . . . 0,128 %,
also gegenüber dem Frischgehalt . . . 0,6 %
einen Arbeitsverlust von . . . . 79 %.

Der Arbeitsverlust war also nahezu derselbe wie bei Zusatz von Pankreasextrakt und wesentlich kleiner als derjenige beim Arbeiten ohne Zusätze zur Speisungsflüssigkeit (91 %). Ich habe mein mit Haferextrakt erhaltenes Ergebnis in der Diskussion zu Magnus-Levys Vortrag auf dem 28. Kongreß für innere

[1]) Siehe den Vortrag von Magnus-Levy und die anschließende Diskussion auf dem 28. Kongreß für innere Medizin in Wiesbaden 1911; Verhandlungen desselben, S. 246 bis 262.

Medizin[1]) erwähnt, in der auch Bürker mitteilte, daß er eine Hemmung der von ihm beobachteten Oxydation des Traubenzuckers in alkalischer Lösung gefunden habe. In der gleichen Diskussion teilte auch His mit, daß in Versuchen, die Jeanneret in seiner Klinik anstellte, Verabreichung alkoholischer Extrakte von Hafermehl bei gleichbleibender Kost die Zuckerausscheidung an den betreffenden Tagen herabsetzte. Im allgemeinen hat aber damals und seitdem die Neigung vorgewaltet, die Haferwirkung auf eine bessere Ausnützung der Haferstärke, eventuell unter Mitwirkung besonderer fermentativer Spaltungsvorgänge im Darm (Klotz) zurückzuführen.

Positive Wirkung injizierten Haferextraktes beim pankreasektomierten Hund hat auch v. Noorden in seinem Buche über die Zuckerkrankheit[2]) mitgeteilt, doch mehr als vereinzelten Befund, der zu weiterer Fortsetzung der Versuche die Veranlassung bieten sollte. Inzwischen dürfte dieser Anregung eine ganz bestimmte Richtung gegeben sein durch die Erfahrungen über „partielle Unterernährungskrankheiten", wie Beriberi und Geflügelpolyneuritis durch geschliffenen Reis, Barlowsche Krankheit durch sterilisierte Milch, experimentellen Skorbut durch trockene Körnerfrüchte usw. Die „Ergänzungsstoffe", deren Fehlen oder nicht Wirksamwerden diesen Krankheiten zugrunde liegt („Vitamine" C. Funks), sind offenbar sehr verschiedenartiger chemischer Natur, und ihre Kennzeichnung nach den Wirkungen, wie chemische Isolierung bildet ein großes Gebiet, zu dem diese und die vorhergehende Mitteilung[3]) kleine Beiträge sind. Bei den Körnerfrüchten sind die Schalengebilde und Randzonen der Kotyledonen, sowie die Embryonen Hauptsitz dieser „Ergänzungsstoffe", und es liegt deshalb nahe, falls wirklich der Hafer spezifische antidiabetisch oder antiglucosurisch wirkende Stoffe enthält, sie in seinen Schalengebilden bzw. der äußersten Schicht des Kornes zu suchen. Ich habe deshalb in den letzten Monaten Versuche mit Extrakten aus sog. Haferschleifmehl gemacht. Ein sehr geeignetes Versuchsobjekt dazu bot eine Hündin, an der in meinem Laboratorium

---

[1]) A. a. O.

[2]) S. 319 der 5., S. 482 der 7. Auflage.

[3]) Diese Zeitschr. 82, 103, 1917.

von Herrn Dr. Salzmann eine Pankreasexstirpation ausgeführt worden ist, und die, obwohl höchstens $^1/_{20}$ des Organs belassen wurde, seit Monaten in bester Gesundheit ist. Sie scheidet im Hungerzustande keinen Traubenzucker, wohl aber Glucuronsäure im Harn aus, der sehr ausgesprochen positive Tollenssche Reaktion mit Naphthoresorcin gibt. Bei an Kohlenhydraten, aber auch bei an Eiweiß reicher Kost werden nicht sehr erhebliche Mengen Traubenzucker (bis zu 18 g an einem Tage) ausgeschieden. Bei Aufenthalt im Stoffwechselkäfig und Fütterung mit aus Gemüse- und Fleischabfällen hergestellter Suppe sinkt die Zuckerausscheidung schnell auf Null, und es läßt sich die Wirkung einer Substanz auf dieselbe bequem und genau dadurch ermitteln, daß einen oder einige Tage lang zur Kost ein bestimmtes Quantum Rohrzucker zugefügt wird, einerseits ohne, anderseits mit Verabreichung der in Frage kommenden Substanz. Aus dem Haferschleifmehl wurden wässerige Extrakte unverdünnt, sowie bei niederer Temperatur eingedampft, mit reinem Alkohol, mit Äther, endlich mit verdünntem Alkohol hergestellte Extrakte bereitet und untersucht. Ätherische, die Lipoide enthaltende Extrakte, wurden unwirksam, alle übrigen sehr auffällig wirksam befunden.

So wurden beispielsweise nach tagelanger Zuckerfreiheit der Kost am 13. IX. 17 200 g Rohrzucker zugesetzt, was am 14. zur Ausscheidung von 1,2 g, am 15. von 2,5 g, am 16. von 0,5 g Traubenzucker, im ganzen also 4,2 g führte. Darauf wieder Zuckerfreiheit. Am 20. IX. Wiederholung der Zulage von 200 g Rohrzucker, diesmal außerdem wässeriges Extrakt aus 100 g Haferschleifmehl. Am 21. werden in drei Harnportionen 0, 0,24 und 0,06 g, am 22. 0,3 g Traubenzucker ausgeschieden, zusammen 0,6 g. Am 23. wieder Zuckerfreiheit. In einem anderen Versuch waren (vom 14. bis 17. I. 18) auf kohlenhydrat- und eiweißreiche Kost in drei Tagen 16,1, 16,0 und 8,8 g Zucker ausgeschieden worden. Auf magere Suppe mit zweimaliger Extraktzulage wie oben fiel die Ausscheidung schnell auf 1,9 g (18. I.) und 0 g (folgende Tage). Als am 28. I. zur Kost (bei Zuckerfreiheit) wieder 200 g Rohrzucker zugesetzt wurden, wurden am folgenden Tage (29. I.) $3,4 + 1,2 = 4,6$ g Traubenzucker ausgeschieden, am 30. noch $1,33 + 1,02 = 2,35$ g. An diesem Tage wurden wieder 200 g Rohrzucker zugelegt, außer-

dem aber das eingedickte Extrakt von 100 g Haferschleifmehl. Darauf wurden am 31. I. 0,5 + 0,6 = 1,1 g, am 1. II. noch 0,8 g Traubenzucker ausgeschieden, dann trat wieder Zuckerfreiheit ein. Es ist also bei gleicher Zulage die Ausscheidung mit Extraktgabe nur 1,9 g gewesen gegenüber nahezu 7 g ohne Extraktgabe. Aber auch bei Zuckerfreiheit wird bei dem Tier durch das Extrakt die Menge der Glucuronsäure herabgesetzt, wie wiederholt durch das Schwächerwerden der Tollensschen Naphthoresorcinreaktion und Ausbleiben der Rechtsdrehung, die

Tabelle III.

Datum	Zucker %	Tagesmenge in g	Bemerkungen
1. Frau Schr.	Beobachtet vom 24. IX. bis 2. XI. Niemals Aceton noch Acetessigsäure.		
11. X.	1,2	39,6	
12. X.	2,3	48,3	
13. X.	1,33	21,8	1 Liter Wasserextrakt von 100 g Schleifmehl.
14. X.	1,62	53,7	
15. X.	1,62	50,0	
2. Frau K.	Beobachtet vom 14. I. bis 5. II. Stets positive Acetonproben, Acetessigsäure wechselnd.		
20. I.	6,0	240,0	
21. I.	6,4	307,2	
22. I.	5,76	230,0	
23. I.	4,44	160,0 }	je 1/2 Liter Wasserextrakt aus 50 g Haferschleifmehl.
24. I.	5,7	205,2 }	
25. I.	6,64	199,2	
26. I.	5,2	104,0 }	wie oben.
27. I.	5,5	108,0 }	
28. I.	7,0	336,0	
29. I.	6,4	218,0	
30. I.	4,45	77,0 }	wie oben.
31. I.	6,2	186,0 }	
1. II.	7,12	235,0	
3. E. Schr.	Beobachtet vom 9. II. ab. In letzter Zeit mit zunehmender Zuckerausscheidung gelegentlich Spuren Aceton.		
18. II.	2,467	93,9	
19. II.	3,2	134,4	
20. II.	1,025	43,5 }	Eingedunstetes Extrakt von je 50 g Haferschleifmehl.
21. II.	0,88	33,3 }	
22. II.	2,267	72,5	
23. II.	1,19	38,3 }	Eingedunstetes Extrakt von je 50 g Haferschleifmehl.
24. II.	1,83	50,3 }	
25. II.	3,13	131,5	
26. II.	3,16	146,9	
27. II.	3,2	121,6	

der Harn sonst nach vorherigem Kochen mit HCl zeigt, sichergestellt wurde. Es sei bemerkt, daß diese Wirkungen der Extrakte so weitgehend spezifisch sind, daß vergebens versucht worden ist, sie durch verschiedene medikamentöse Stoffe, wie Salizylsäure, kleinste Dosen Hg-Salze u. a. zu reproduzieren. Auch hat die Asche der Extrakte die Wirkungen nicht!

Ich habe aber auch Gelegenheit gehabt, diese Wirkungen bei einer ganzen Reihe von im Krankenhause am Friedrichshain behandelten Diabetikern zu bestätigen. Es handelte sich meistens um Patienten mit chirurgischen Affektionen, die keine besondere medikamentöse noch diätetische Behandlung erfuhren, vielmehr die nach den jetzigen Verhältnissen ihnen als leichten oder mittelschwer Zuckerkranken zustehende, recht gleichmäßige Kost nahmen und dementsprechend auch eine ziemlich konstante Zuckerausscheidung zeigten (nach jedem Sonntag gewöhnlich leichtes Ansteigen). Daß die Verabreichung der Haferschleifmehlextrakte unter diesen Umständen beträchtliche Herabsetzungen bewirkt, zeigen folgende Beispiele (siehe Tabelle III). Der erste und der dritte Fall sind leichterer Natur, indem durch Kohlenhydratentziehung völlige Zuckerfreiheit zu erzielen war und Acetonkörper bei den während der Versuche obwaltenden Verhältnissen nicht ausgeschieden wurden. Der zweite Fall hingegen ist schwererer Art, wie aus der Größe der Zuckerausscheidung und der niemals fehlenden, wenn auch nicht sehr bedeutenden Acetonausscheidung ersichtlich. Mit Extrakten aus gewöhnlichem Hafermehl wurden gelegentlich ebenfalls ähnliche Ergebnisse erhalten, aber nicht mit gleicher Regelmäßigkeit und Ausgesprochenheit, wie mit denjenigen aus dem Haferschleifmehl. Weitere Ergebnisse klinischen Interesses, sowie Ergebnisse von Versuchen zur Isolierung wirksamer Stoffe werden später bzw. an anderer Stelle mitgeteilt werden.

Die Ergebnisse der hier mitgeteilten Versuche lassen sich dahin zusammenfassen, daß der Glykogenverbrauch des überlebenden Fleischfresserherzens ebenso wie der postmortale Glykogenschwund dieses Organs größer ist als beim Pflanzenfresserherzen, daß er bei dem letzteren durch den Hungerzustand (Annäherung an den Stoffwechsel des Fleischfressers) erhöht

wird. Der Glykogenverbrauch des überlebenden Fleischfresserherzens wird herabgesetzt durch Zusatz von Pankreasextrakten, sowie von Hefe- und von Haferextrakten zur Speiseflüssigkeit. Extrakte aus der Rindenschicht der Haferkörner setzen, innerlich verabreicht, sowohl beim pankreasdiabetischen Hund als beim diabetischen Menschen bei unveränderter Kost oder gleichgroßer Kohlenhydratzulage die Zuckerausscheidung beträchtlich herab. Alles weist darauf hin, daß in der Rindenschicht der Haferkörner ein spezifisch antiglucosurisch wirksamer Stoff enthalten ist.

Überführung der Fructose-diphosphorsäure in Fructose-monophosphorsäure.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Ausgehend von der Erfahrung, daß bei größeren Molekülverbänden, die in der Natur gebildet und irgendwie im Stoffwechsel umgesetzt werden, der Abbau in Stufenreaktionen erfolgt, wurden nachstehende Versuche vorgenommen.

Hefe vermag — insbesondere nach voraufgegangener Überführung in den trockenen Zustand — Phosphate mit gärfähigen Hexosen zu verestern; dabei wird aus Traubenzucker, Fructose und Mannose dieselbe Verbindung gebildet. Der Streit über die Zusammensetzung derselben ist vor einiger Zeit von Neuberg in Gemeinschaft mit Färber, Lewite und Schwenk[1]) dahin entschieden worden, daß Fructose-diphosphorsäure vorliegt. Diese Substanz wird von lebender Hefe nicht angegriffen, aber von Hefepreßsaft[2]) sowie erwartetermaßen von Macerationssaft[3]) vergoren. Dabei wird zunächst die Phosphorsäure durch ein in die Zymaselösung übergetretenes Ferment abgespalten; es ist vorläufig nicht untersucht, ob die Abtrennung beider Phosphorsäurereste gleichzeitig oder nacheinander geschieht.

Einen stufenweisen Abbau des Fructose-diphosphats kann man nun unschwer mit hydrolysierenden chemischen Agenzien saurer Natur erreichen. Der Fructose-diphosphorsäure-

[1]) C. Neuberg, E. Färber, A. Lewite und E. Schwenk, diese Zeitschr. **83**, 244, 1917.

[2]) A. Harden und W. J. Young, Chem. Centralbl. **1910**, II, 1075.

[3]) gelegentlich von mir festgestellt, aber nicht besonders veröffentlicht.

ester wird dabei zunächst unter Abspaltung eines Moleküls Phosphorsäure in die wohlcharakterisierte Fructose-monophosphorsäure umgewandelt, im Sinne der Gleichung:

$$C_6H_{10}O_4(PO_4H_2)_2 + H_2O = C_6H_{11}O_5(PO_4H_2) + H_3PO_4.$$

Das Fructose-monophosphat kann in Form seiner Salze nach folgenden Verfahren rein dargestellt werden.

1. 13,7 g fructose-diphosphorsaures Calcium[1]) werden mit 150 ccm n-Salzsäure 45 bis 60 Minuten gelinde erwärmt. Die schwach gelb gefärbte, klare Flüssigkeit wird warm mit der theoretischen Menge kohlensaurem Kalk versetzt und die noch bestehende saure Reaktion alsdann in der Kälte durch Zugabe von Kalkmilch beseitigt, wobei ein Überschuß von Calciumhydroxyd durch sofortiges Einleiten von Kohlensäure entfernt wird. Das Filtrat der gut ausgewaschenen Kalksalze, die auch die abgespaltene Phosphorsäure und eventuell unverändertes Ausgangsmaterial in Form der unlöslichen Calciumverbindungen einschließen, wird bei 40° eingeengt; dabei fallen meistenteils noch kleine Mengen von phosphorsaurem und kohlensaurem Kalk aus. Die gegebenenfalls nochmals filtrierte Lösung läßt man unter beständigem Umrühren in dünnem Strahl in Alkohol einfließen. Dabei scheidet sich das in Wasser lösliche Kalksalz der Fructose-monophosphorsäure als schwach gelbliches, lockeres Pulver ab. Ihm kann zunächst noch Calciumchlorid anhaften, das durch abermalige Umfällung der Substanz aus wäßriger Lösung durch Alkohol leicht beseitigt wird. Bei richtig geleiteter Operation ist das fructose-monophosphorsaure Calcium nach der zweiten Umfällung fast rein weiß; anderenfalls muß die wäßrige Lösung durch Kochen mit wirksamer Tierkohle entfärbt und durch Alkohol niedergeschlagen werden. Ausbeute 6 bis 8 g.

Die bei 105° bis zum gleichbleibenden Gewicht getrocknete Substanz enthält noch 1 Molekül Krystallwasser.

0,2236 g Substanz ergaben 0,0900 g Asche (Calciumpyrophosphat).

0,2214 g Substanz lieferten 0,0396 g CaO (= 0,0283 g Ca) und 0,0775 g $Mg_2P_2O_7$ (= 0,0216 g P).

0,2120 g Substanz ergaben 0,1802 g CO_2 und 0,0782 g H_2O.

---

[1]) lufttrocken, = 13 g reinem Calciumsalz.

$C_6H_{11}O_9PCa + H_2O$.	Berechnet:	Gefunden:
	$Ca_2P_2O_7$ = 40,18 %,	40,25 %,
	Ca = 12,65 %,	12,78 %,
	P = 9,81 %,	9,76 %,
	C = 22,79 %,	23,18 %,
	H = 4,11 %.	4,12 %.

2. 9,5 g krystallisierte Oxalsäure werden in 150 ccm warmem Wasser gelöst und noch heiß mit 13,7 g fructose-diphosphorsaurem Kalk versetzt. Bei dieser Arbeitsweise scheidet sich das entstehende Calciumoxalat in solcher Form ab, daß nunmehr das erforderliche halbstündige Erhitzen auf dem Babo-Blech ohne Stoßen und ohne Absetzungen am Kolbenrande vor sich geht. Die Neutralisation erfolgt hier wiederum zunächst mit kohlensaurem Kalk und zum Schluß mit Calciumhydroxyd in der zuvor beschriebenen Weise. Beim Eindampfen der klaren Endlösung gewinnt man ohne weiteres fructose-monophosphorsaures Calcium in Form eines schwach gelblichen Pulvers, das durch Waschen mit etwas Alkohol von anhaftenden Verunreinigungen befreit werden kann; leichter erhält man das Salz in rein weißem Zustande durch Ausfällung aus wäßriger Lösung mittels Alkohol und durch eventuelle Wiederholung dieser Behandlung. Die Ausbeute war dieselbe.

0,1421 g Substanz, bei 105° getrocknet, ergaben 0,0574 g Asche.

0,1341 g Substanz lieferten 0,0235 g CaO (= 0,0168 g Ca) und 0,0472 g $Mg_2P_2O_7$ (= 0,0131 g P).

$C_6H_{11}O_9PCa + H_2O$:
Ber.: $Ca_2P_2O_7$ = 40,18; Ca = 12,65; P = 9,81 %.
Gef.: $Ca_2P_2O_7$ = 40,40; Ca = 12,53; P = 9,77 %.

3. In 150 ccm heiße n-Oxalsäure werden 13,7 g hexosediphosphorsaures Calcium eingetragen. Nach etwa halbstündigem Kochen wird die erkaltete Flüssigkeit vom Calciumoxalat abfiltriert und nach dem Anwärmen mit überschüssigem Bariumcarbonat geschüttelt, bis die Flüssigkeit blaues Lackmuspapier nicht mehr rötete. Nach dem Stehen im Eisschrank wurde abgesaugt und das klare Filtrat bei etwa 40° eingeengt. Nach Entfernung eines geringfügigen wiederaufgetretenen Nieder-

schlages konnte durch Zusatz von Alkohol das rohe und durch Wiederholung dieser Behandlung mit dem wieder in Wasser gelösten Salz das reine fructose-monophosphorsaure Barium gewonnen werden.

Die Ausbeute betrug etwa 9 g.

Auch das Bariumsalz hält bei 105° 1 Molekül Wasser zurück.

0,2540 g Substanz lieferten, nach Trocknung bei 105°, 0,1378 g Asche, die aus Bariumpyrophosphat bestand.

$C_6H_{11}O_9PBa + H_2O$. Berechnet: $Ba_2P_2O_7 = 54,29\,\%$;
gefunden: $Ba_2P_2O_7 = 54,25\,\%$.

Fructose-monophosphorsäure bzw. deren Verbindungen können auch durch die entsprechende Behandlung von fructose-diphosphorsauren Salzen mit Phosphorsäure oder auch aus dem fructose-diphosphorsauren Barium mit Schwefelsäure sowie auch durch Erhitzen von freier Fructose-diphosphorsäure selbst dargestellt werden.

Im Gegensatz zu den entsprechenden Verbindungen des Fructose-diphosphorsäureesters sind die Salze der Fructose-monophosphorsäure mit Calcium, Barium, Magnesium sowie Zink in Wasser löslich. Die wäßrige Lösung des Kalksalzes reagiert ganz schwach alkalisch auf Lackmuspapier, ist jedoch ohne Einwirkung auf Phenolphthalein. Bleiacetat erzeugt einen geringen, Bleisubacetat einen kräftigen Niederschlag. Die Salze der Fructose-monophosphorsäure reduzieren Fehlingsche Mischung, die bei Anwendung der Erdalkaliverbindungen zweckmäßig mit Kupferchlorid oder Kupferacetat bereitet wird, kräftig in der Wärme. Der eine Phosphorsäurerest haftet fest am Zuckermolekül; er wird bei längerem Kochen mit Säuren oder Alkalien abgespalten. Am leichtesten wird der Phosphorgehalt nach dem Verfahren von Neuberg und Mandel[1]) nachgewiesen, wenn man die Substanz mit Wasserstoffsuperoxyd und einer Spur Eisensalz in schwach salpetersaurer Lösung kurze Zeit erwärmt, wobei die in organischer Verbindung vorhanden gewesene Phosphorsäure frei wird.

Bei langsamer Abscheidung kann man das Bariumsalz mikrokrystallinisch erhalten. Über die leicht und schön krystallisierenden Verbindungen mit Phenylhydrazin, p-Brom-

[1]) C. Neuberg und J. A. Mandel, diese Zeitschr. 71, 196, 1915.

und p-Nitrophenylhydrazin sowie über die Alkaloidsalze soll später berichtet werden.

Durch Loslösung eines Phosphorsäurerestes aus der Fructose-diphosphorsäure wird auch der biologische Charakter geändert. Das Diphosphat kann bekanntlich mit lebender Hefe auf keine Weise zur Vergärung gebracht werden; das Monophosphat (z. B. in Form des Kalksalzes) wird dagegen von lebender Hefe vergoren. Nach einer mehrstündigen Inkubationszeit, während der offenbar eine Phosphatase in Wirksamkeit tritt, setzt eine anhaltende Gärung ein. Die Loslösung der Phosphorsäure und damit einhergehend die alkoholische Zuckerspaltung schreiten nur langsam fort. Bei Verwendung von konzentrierten Lösungen scheidet sich das frei gewordene Calciumphosphat in Gallertklumpen ab, ähnlich wie solche bei der Zerlegung von rohrzuckerphosphorsaurem Kalk durch die Saccharophosphatase auftreten[1]). Bezüglich der Vergärbarkeit gleicht dieses durch teilweise Hydrolyse von Fructose-diphosphorsäure erhaltene Monophosphat jener Fructose-monophosphorsäure, die von Neuberg und Kretschmer[2]) durch Phosphorylierung der Fructose sowie aus phosphoryliertem Rohrzucker früher dargestellt worden ist. Der Vergleich mit dieser Verbindung, die übrigens auch durch Invertinspaltung von Saccharose-monophosphorsäure bereitet werden kann, soll zu gelegener Zeit ausgeführt werden.

Diese Umwandlung von Fructose-diphosphat in Fructose-monophosphorsäureester zeigt auf einem neuen Wege, daß in ersterem ein Hexosederivat, aber nicht — wie von anderen Seiten früher irrtümlich angenommen worden war — ein Triose-abkömmling vorliegt; denn letzterer könnte dabei nur eine phosphorfreie Verbindung oder eine solche ergeben, in der Kohlenstoff und Phosphor in dem Verhältnis 3C:1P stehen, dagegen keine Substanz, die 6C-Atome auf 1P-Atom aufweist.

Bei den Vorarbeiten zu diesen Versuchen habe ich mich der Unterstützung durch Herrn Dr. E. Kretschmer zu erfreuen gehabt.

---

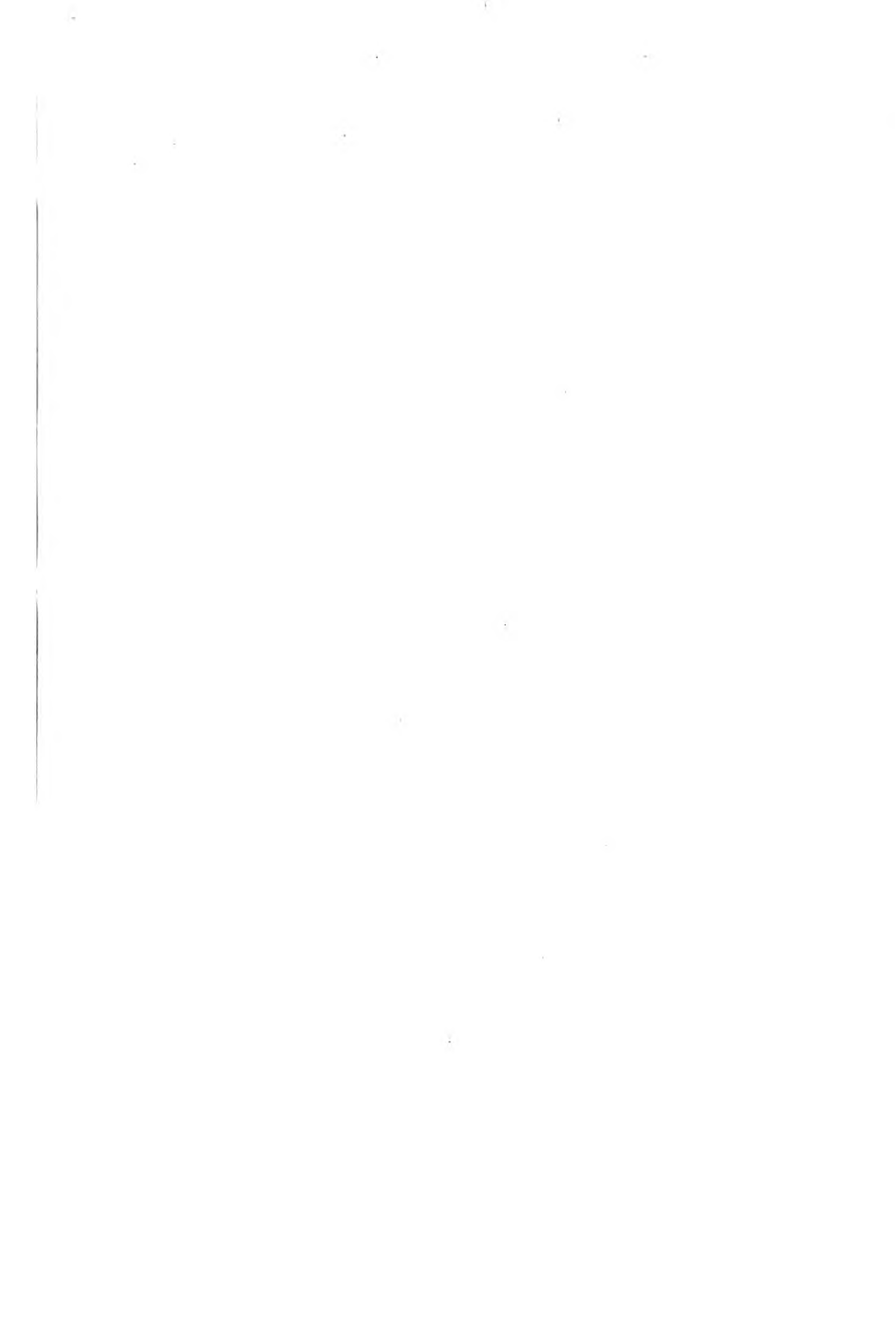
[1]) K. Djenab und C. Neuberg, diese Zeitschr. 82, 391, 1917.

[2]) C. Neuberg und E. Kretschmer, diese Zeitschr. 36, 5, 1911.

Autorenverzeichnis.








Princeton University Library
32101 079671598

